

Année 1971

N° **47**

THESE POUR LE
DOCTORAT EN MEDECINE
(Diplôme d'Etat)

par

R E N E M A R C Y
né le 20 Juin 1926 à M O N A C O

Docteur en Pharmacie
Ancien Interne et Chef de Laboratoire des Hôpitaux de PARIS
Lauréat de la Faculté de Pharmacie de PARIS
Diplômé de Pharmacotechnie et de Pharmacodynamie
Licencié ès-Sciences
Agrégé des Facultés de Pharmacie
Professeur titulaire de Pharmacodynamie à l'Université
de
C A E N

présentée et soutenue publiquement le

26 MAI 1971

L'ADMINISTRATION LOCALE D'UNE ANTIPROTEASE NATURELLE
- L'INHIBITEUR DE FREY OU ZYMOFREN (N.D) -
EN RHUMATOLOGIE

Etude Pharmacologique et Clinique

Président : Dr PORIN
Dr OLIVIER
Dr SAVINI
Dr LOYAU

Professeur de Clinique Médicale
Professeur de Clinique Médicale
Professeur de Pharmacologie
Professeur Agrégé de Rhumatologie



Reproduction du sceau original de la faculté de Médecine de CAEN, fondée en 1438



Par délibération en date du 29 Mars 1969,
La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation, ni improbation.

PROFESSEURS

MM. PORIN	Clinique médicale A
BONNET	Clinique obstétricale
GUIBE	Clinique Chirurgicale A
LACROIX	Clinique et pathologie chirurgicales B
LEMAIRE	Physiologie
LEMENAGER	Séméiologie
LHIRONDEL	Clinique médicale infantile
OLIVIER	Clinique médicale B
PHELINE	Anatomie
POULAIN	Médecine opératoire
SAVINI	Pharmacologie
VALLA	Médecine générale et thérapeutique
VILLEY	Clinique médicale C

PROFESSEURS AGREGES

MM. BRION	Psychiâtrie
DAVERNE	Electro-radiologie
DESCHAMPS	Dermatologie
DROSDOWSKY	Biochimie médicale
EVRARD	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire.
FABRE	Physiologie
FERNANDEZ	Physique médicale
FOUCAULT	Médecine générale et Médecine expérimentale
GAUBERTI	Médecine préventive et santé publique, Hygiène
GUIHARD	Médecine générale
IZARD	Histologie et embryologie
LEVY	Gynécologie et obstétrique
LOYAU	Rhumatologie
MOREL	Bactériologie, parasitologie, virologie
MORIN	Neurologie
POILPRE	Psychiâtrie
ROUSSELOT	Anatomie pathologique
THERET	Histologie et embryologie
VENEZIA	Pédiâtrie

month	0	change	0	month	0	change	0	month	0	month
	0		0		0		0		0	

A ma femme,

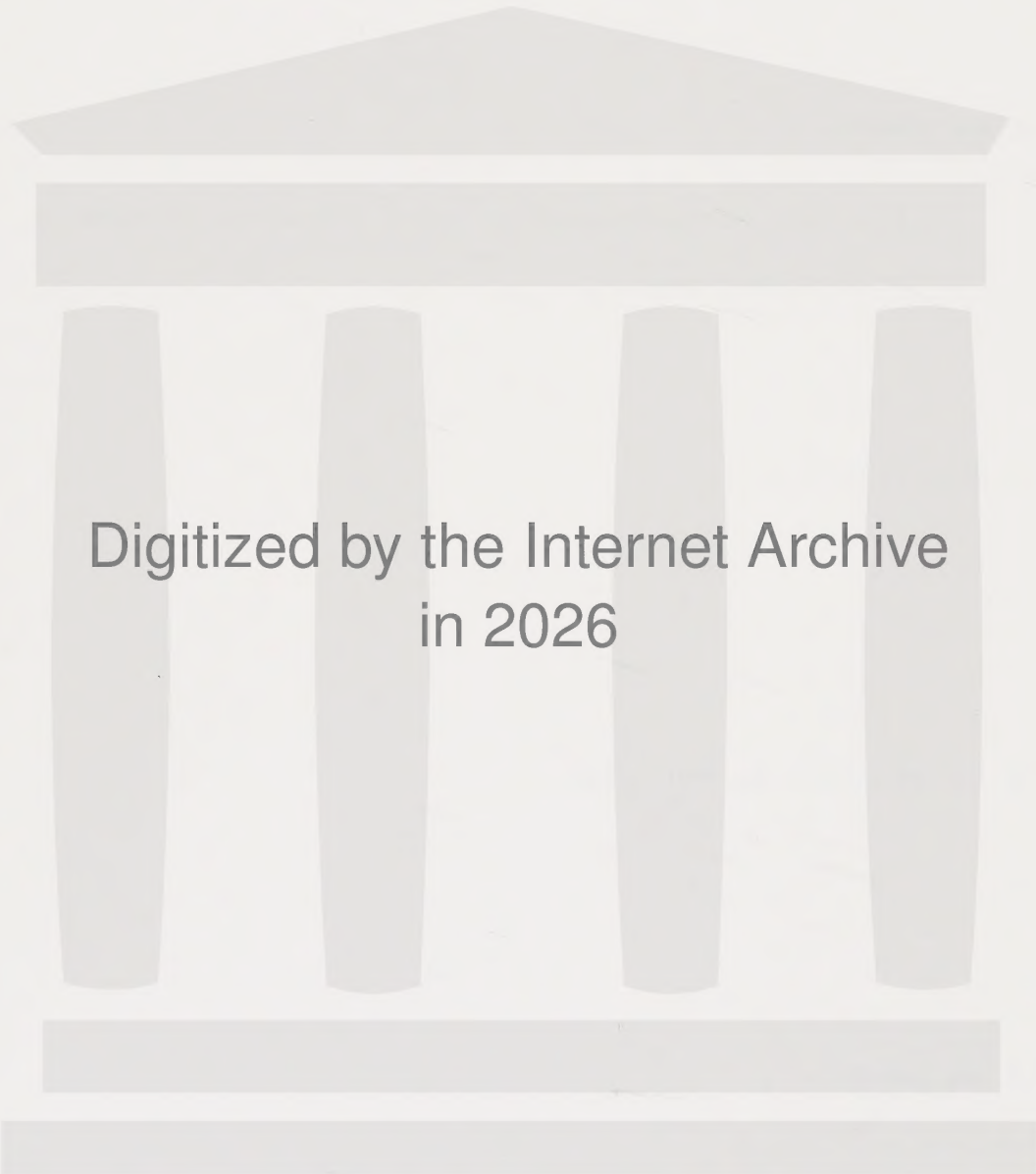
sans qui cette thèse et bien d'autres choses
ne seraient pas,

A mes enfants,

A la mémoire de mon père,

A ma mère,

A ma famille et à mes amis.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550819_0030

A Monsieur le Doyen PORIN,

en le remerciant respectueusement de l'honneur
qu'il nous a fait en acceptant de présider le
jury de notre thèse,

et en l'assurant de notre reconnaissance pour
la bienveillance dont il veut bien faire preuve
à notre égard

A Monsieur le Professeur OLIVIER,

qui nous a toujours prodigué sa sympathie,
Nous lui sommes gré d'avoir accepté, avec la
charmante amabilité qui lui est coutumière, de
siéger dans notre jury.

A Monsieur le Professeur SAVINI,

dont nous avons souvent apprécié la grande
compétence scientifique et l'amicale courtoisie,
en le remerciant d'avoir bien voulu participer
à notre jury.

A Monsieur le Professeur Agrégé LOYAU,

à qui nous devons la direction clinique de
cette thèse,
et que nous remercions pour l'intérêt intellectuel
et l'atmosphère amicale dont, grâce à lui, a été
empreint notre travail.

A Monsieur le Docteur DUMAS,

en amical remerciement de l'aide qu'il nous a
apportée et des conseils pertinents qu'il nous
a prodigués.

A Monsieur le Doyen VALETTE

Membre de l'Académie de Médecine,

en faible gage de notre reconnaissance,
et comme marque du respectueux et fidèle attachement
que nous éprouvons pour notre Maître.

A Monsieur le Professeur MANGEOT,

en souvenir du temps où nous avons été son interne.
Nous n'avons pas oublié la sollicitude rayonnante de
chaleur humaine qu'il nous a témoignée

A Monsieur le Doyen QUEVAUVILLER

Membre de l'Académie de Pharmacie,

qui nous a appris et fait aimer la Pharmacodynamie,
afin qu'il sache combien nous lui en sommes respectu-
eusement reconnaissant.

A Monsieur le Professeur VELLUZ

Membre de l'Institut,

qui nous a fait le grand honneur de nous intégrer
dans l'équipe des auteurs de "Médicaments Organiques
de Synthèse",
en témoignage de notre gratitude et de notre respect.

A la mémoire de Monsieur le Professeur ROUSSELOT,

A la mémoire de Monsieur le Professeur PELLET,

A mes collègues enseignants de la FACULTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE,

A mes collaborateurs du LABORATOIRE DE PHARMACODYNAMIE,

A mes chercheurs et à mes étudiants

- L'ETUDE CLINIQUE

a été réalisée

à la CLINIQUE MEDICALE A

du CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE CAEN

- Professeur J. PORIN

- Professeur agrégé G. LOYAU

- Docteur M. DUMAS, Attaché

- L'ETUDE PHARMACOLOGIQUE

a été effectuée

au LABORATOIRE DE PHARMACODYNAMIE

de la FACULTE DE PHARMACIE DE CAEN

avec la collaboration technique de
Messieurs COTELLE et ELISSALDE et de
Madame BASSET que nous remercions pour
leur diligence attentive.

I N T R O D U C T I O N

- - -

- Ces dernières années, la présence et l'activité des protéases au cours de l'inflammation ont fait l'objet de nombreux travaux qui permettent aujourd'hui d'affirmer non seulement que ces enzymes interviennent dans les processus inflammatoires, mais encore qu'elles y jouent un rôle important et, probablement même, capital. Dans le cadre d'une monographie sur les anti-inflammatoires parue récemment (MARCY, 1970) nous avons d'ailleurs, pour notre part, souligné la valeur des divers arguments soutenant l'hypothèse selon laquelle l'activité de certains anti-inflammatoires s'expliquerait, au moins en partie, par leur action antiprotéolytique.
- Le fait que les protéases, comme l'INHIBITEUR PAROTIDIEN DE FREY (ZYMOFREN - N.D), soient douées elles-mêmes d'une activité anti-inflammatoire, fournit une confirmation de valeur à l'hypothèse précédente et surtout apporte une solution nouvelle et originale en thérapeutique anti-inflammatoire.
- Etant donné que divers syndromes rhumatologiques semblent ainsi devoir bénéficier d'un traitement par le ZYMOFREN si celui-ci est administré localement (voie intra-ou péri-articulaire), il nous a paru intéressant d'une part de vérifier expérimentalement l'efficacité de ce médicament sur des tests pharmacologiques et d'autre part d'étudier ses applications cliniques en rhumatologie de façon à préciser ainsi ses indications thérapeutiques en ce domaine.
- Par ailleurs, afin de disposer des éléments de base nécessaires à la discussion des résultats expérimentaux et cliniques obtenus, il s'est avéré nécessaire d'expliquer le mécanisme de l'action anti-inflammatoire des anti-protéases et par voie de conséquence d'exposer auparavant la conception actuelle de l'inflammation. De la sorte, le plan suivant a été adopté :

P L A N

- -

Chapitre I - Le rôle des protéases dans l'inflammation

A - Les protéases

1. Les protéases lysosomiales

2. Les protéases plasmatiques

3. Les produits résultant de l'action des
protéases

B - Les anti-protéases naturelles

Chapitre II - Etude pharmacologique

A - Considérations générales et principes de
l'expérimentation

B - Conditions de l'expérimentation

C - Résultats obtenus

D - Interprétation des résultats

E - Discussion

Chapitre III - Etude clinique

A - Analyse des travaux antérieurs

1. Conditions générales des essais

2. Résultats

B - Observations personnelles

1. Méthodologie

2. Résultats obtenus

3. Discussion et essai de confrontation
pharmaco-clinique

Conclusions

CHAPITRE I

- - -

LE ROLE DES PROTEASES DANS L'INFLAMMATION

- - -

A.- LES PROTEASES

A côté d'enzymes protéolytiques comme la pepsine, la trypsine, la chymotrypsine, etc., limitées fonctionnellement et topographiquement au tractus digestif, l'organisme renferme des protéases dont la distribution et les activités sont respectivement ubiquitaire et multiples.

1.- Les protéases lysosomiales

- Toutes les cellules contiennent, à côté d'hydrolases diverses (phosphatases acides, glucuronidase, glucosidases, lipases, nucléases), des protéases connues également sous le nom de cathepsines. Ces enzymes forment des micro-gouttelettes au sein du cytoplasme dont elles sont séparées par une pellicule lipoprotéique extrêmement mince (DE DUVE, 1955). Ces vésicules, en raison précisément de leur richesse en enzymes peptidasiques dont l'effet visible sur les protéines est une lyse, ont été dénommées lysosomes. Toutes les cellules, comme il est dit précédemment, possèdent des lysosomes. Certaines toutefois en sont plus particulièrement pourvues, ce sont les cellules du système réticulo-histiocytaire et les polynucléaires dont les granulations classiques seraient précisément des lysosomes (MITROVIC et coll., 1970).
- La membrane lysosomiale est imperméable à ces enzymes qui n'ont pas, par conséquent, accès au cytoplasme et " a fortiori ", hors de la cellule. Cependant, dans des circonstances telles que la régénération des constituants de la cellule, la régression d'organes involutifs, les thésaurismoses et plus particulièrement au cours de la phagocytose

et d'agressions cellulaires diverses d'ordre mécanique, physique, chimique ou immunologique, la membrane du lysosome laisse s'échapper son contenu enzymatique. (GAJDOS, 1966) (DINGLE et coll., 1969) (MITROVIC et coll., 1970)

- On ne peut manquer d'être frappé par la similitude qui existe entre la libération des enzymes lysosomiales et le déclenchement de l'inflammation du point de vue des rapports entre les causes et les effets. Dans un cas comme dans l'autre, les facteurs étiologiques sont multiples et non spécifiques tandis que le phénomène provoqué est fondamentalement univoque et standardisé même si son expression seméiologique est variable. Bien plus, à l'exception des deux conditions, d'ailleurs physiologiques pour leur part, citées au début de la liste des circonstances de la libération des enzymes lysosomiales donnée quelques lignes plus haut, les autres se retrouvent aussi à l'origine ou dans les stades initiaux des processus inflammatoires. Chacun sait, en effet, le rôle joué par les traumatismes, le froid et la chaleur, les radiations, les substances nécrosantes (acides et bases, essence de térébenthine, moutarde, huile de croton, ypérite, etc...), et les venins à l'origine de phénomènes inflammatoires. Ces derniers, est-il besoin de le rappeler, peuvent être provoqués par les parasites, les bactéries et les virus, la présence de cellules cancéreuses ou encore celle de corps figurés (poussières de silice, de talc, d'alumine, d'amiante, fibres végétales et synthétiques, corps étrangers divers, productions du métabolisme endogène plus ou moins dévié tels les cristaux d'acides gras, de cholestérol, d'urates etc...). Ils succèdent aussi, bien sûr, à la création de foyers de nécrose, elle-même secondaire à l'intervention des facteurs précédents (nécroses toxiques) ou bien à un infarctus ou à une hémorragie tissulaire (nécroses ischémiques).

- Au fur et à mesure que de nouveaux travaux sont publiés, on s'aperçoit que la libération des enzymes lysosomiales est à l'origine de nombreux syndromes où les symptômes de l'inflammation sont présents et souvent dominants. Cette libération se fait selon plusieurs modalités. La première de celles-ci est la fragilisation de la membrane lysosomiale par l'anoxie, l'acidose, les toxines - exotoxines comme la streptolysine (WEISSMANN et coll., 1965) ou endotoxines (HOLLINGSWORTH, 1965) - ou les virus. La seconde met en jeu l'interaction de particules inertes ingérées par la cellule avec la membrane du lysosome. C'est ce qui semble se passer au niveau des macrophages alvéolaires * dans les pneumoconioses, tout au moins celles où interviennent des poussières de silice (ALLISON - 1969). La relation avec la phagocytose, déjà signalée, est encore plus prononcée dans le cas des polynucléaires. La membrane des lysosomes de ceux-ci peut être en effet dissoute par les exotoxines lytiques des bactéries phagocytées (DE DUVE, 1970). Après cette troisième modalité de la libération des enzymes lysosomiales, il faut citer celles qui résultent de la surcharge des lysosomes ** par des macromolécules (dextran, polyvidone) et de la concentration élective dans ces organites de colorants ou de substances endogènes absorbant les radiations ultra-violettes.

* Dans les infections à mycobactéries (tuberculose, lèpre), les bacilles, en raison de leur résistance aux enzymes lysosomiales s'accumulent au niveau des lysosomes des macrophages géants et y demeurent sans apparemment léser leur membrane.

** On ne peut pas manquer d'évoquer ici l'accumulation lysosomiale des produits intermédiaires d'une chaîne métabolique présentant une déficience enzymatique (thésaurismoses congénitales par déficit de l'une des hydrolases lysosomiales).

- Dans les cas que nous venons d'exposer, les enzymes lysosomiales se trouvent répandues dans le cytoplasme. Lorsque peu de lysosomes sont en cause, l'agression plurienzymatique, alors que peu intense, est cependant susceptible de provoquer certaines lésions telles que des cassures chromosomiques dues à l'ADN-ase (ALLISON, 1969) ou la dérégulation de certains gènes * (HIRSCHHORN, 1969) liée à l'action des protéases.
- Si la libération des enzymes lysosomiales est plus importante, l'intégrité cellulaire est très compromise et, signe de souffrance cellulaire bien connu, la membrane cytoplasmique devient perméable à diverses substances endocellulaires dont les enzymes lysosomiales elles-mêmes. Enfin, lorsque la libération des enzymes lysosomiales est massive, les protéines cytoplasmiques sont brutalement hydrolysées et la cellule meurt. Alors, les constituants cellulaires et leurs produits de dégradation se répandent dans le secteur interstitiel avec toujours, bien entendu, les enzymes lysosomiales.
- Mais ces dernières peuvent se trouver également au niveau du secteur extracellulaire dans une circonstance constituant une modalité encore différente de la libération des enzymes lysosomiales. Celles-ci n'est autre que le stade terminal de la phagocytose par les cellules spécialisées. En effet, ces cellules, après avoir englobé des organismes étrangers comme les bactéries, les digèrent dans des vacuoles endocytaires digestives (les phagolysosomes) puis en rejettent à l'extérieur les résidus ainsi que des enzymes lysosomiales en excès. Les leucocytes libèrent aussi ces enzymes sous l'influence d'une toxine staphylococcique, la leucocidine et à l'occasion de la phagocytose d'immuno-précipités (phénomène d'ARTHUS) (DE DUVE, 1970) (ASTORGA et coll., 1965).

* De tels phénomènes seraient, pour certains auteurs, impliqués dans la carcinogénèse

- Quelque soit le processus en cause, ces enzymes lysosomiales - originellement endocellulaires - ont donc alors accès au milieu interstitiel. Localement, c'est-à-dire au niveau du foyer inflammatoire, il en résulte une forte activité protéolytique (BAZIN et coll., 1968 a) (Ibid. b). Celle-ci s'accompagne d'une activité phosphatasique acide, également d'origine lysosomiale*, et l'une et/ou l'autre ont pu être mises en évidence dans la synoviale et la synovie rhumatoïdes (SMITH et coll., 1962) (LUSCOMBE, 1963) (LEHMAN et coll., 1964) (ZIFF et coll., 1966) (KERBY et coll., 1967) (WEISSMANN et coll., 1967 b) (MITROVIC, 1969)
- Dans la mesure où la concentration locale des protéases est suffisante et où elles n'ont pas été inactivées, les tissus avoisinants vont subir leur attaque pluri-enzymatique. Dans celle-ci, les protéases paraissent jouer le rôle essentiel et les structures extra-cellulaires en pâtissent plus que les cellules elles-mêmes. C'est du moins ce que l'on peut déduire d'expériences diverses effectuées "in vitro" ou "in vivo" soit à l'aide de fractions cellulaires isolées correspondant aux granules leucocytaires soit en provoquant spécifiquement (par des anticorps antilyosomes ou le rétinol) (WEISSMANN, 1965 a) (FELL et coll., 1963), la rupture des lysosomes. On observe en effet, dans ces conditions, la fragmentation des fibres collagènes (WEISSMANN et coll., 1969 b) et la lyse de la matrice protéique osseuse (FELL et coll., 1963) ou cartilagineuse (WEISSMANN et coll., 1965, 1966, 1967 a, 1968 a, b, 1969 a). De plus, on note une atteinte vasculaire sous les formes d'une exsudation plasmatique, de thromboses (GOLUB et coll., 1965) et d'une nécrose des parois des vaisseaux (WEISSMANN et coll., 1969 b) (WEISS et coll., 1964).

* Il s'agit, dans ces conditions, des lysosomes des chondrocytes

- En dehors de l'attaque des protéines constitutives des tissus, l'irruption des protéases lysosomiales dans le secteur interstitiel conditionne le passage de celles-ci dans le sang et de là dans l'urine. Ainsi se trouve expliquée l'activité protéolytique rencontrée dans ces deux liquides biologiques au cours de syndromes inflammatoires expérimentaux * (BERTELLI et coll., 1969) (MAREK et coll., 1969) (UNGAR et coll., 1961) ou cliniques (APPEL et coll., 1969).

2.- Les protéases plasmatiques

- Le plasma est très riche en protéases variées qui, bien entendu, pour celles qui lui sont propres, existent sous forme inactive. Leur activation met en jeu des systèmes complexes comprenant plusieurs étapes successives et dépendant l'une de l'autre où interviennent précurseurs inactifs, inhibiteurs et activateurs. Ces derniers sont, le plus souvent, des enzymes venant d'être activées qui activent à leur tour les proenzymes leur succédant dans la chaîne des réactions enzymatiques. Ainsi se trouvent constitués des systèmes pluri-enzymatiques définis aboutissant à des phénomènes biologiques déterminés (coagulation, fibrinolyse, libération des kinines) mais pouvant comporter en commun certains chaînons enzymatiques.
- Le système qui intervient spécialement dans l'inflammation est celui des kinines. Il comprend une α_2 -globuline, le kininogène (ou kallidinogène ou bradykinogène) et des kinigénases, enzymes protéolytiques diverses auxquelles elle sert de substrat pour donner naissance à des polypeptides : les kinines.
- Le premier stade des réactions est l'activation des précurseurs enzymatiques inactifs d'origine tissulaire (kallicréinogène) ou plasmatique (plasminogène) en kinigénases actives. Cette

* Une activité protéolytique a également été démontrée dans le sérum du lapin au cours de l'anaphylaxie (SAFIA WASI. 1966)

activation est souvent le fait du premier facteur de la thromboplastino-formation endogène, c'est-à-dire le facteur XII (ou facteur d'HAGEMAN) après sa propre activation (MARGOLIS, 1958 a et b, 1960, 1966) (DONALDSON, 1968) (ARMSTRONG, 1969). On sait qu' "in vitro", l'activation du facteur XII se réalise par contact du sang avec la paroi mouillable du récipient dans lequel on le recueille. "In vivo", cette activation a lieu lorsque le sang ou, plus fréquemment, le plasma, s'extravase dans l'espace interstitiel (ROCHA e SILVA, 1969). Ce dernier terme est, bien entendu, pris sous son sens le plus général de secteur interstitiel englobant les compartiments spéciaux comme les séreuses et donc les cavités articulaires. Dans ces conditions, c'est au contact de surfaces cartilagineuses érodées, de fragments de cartilage, de cristaux de phosphates ou d'urates etc... (KELLERMEYER et coll., 1965) que le facteur XII se trouve activé. Il est également possible que l'activation du facteur XII soit la conséquence d'une diminution de la concentration d'un inhibiteur de son activation naturellement présent dans le plasma. Cette diminution peut être due à une déficience pathologique comme dans l'oedème angioneurotique héréditaire (DONALDSON et coll., 1963, 1968) (LANDERMAN et coll., 1962) ou à des perturbations d'ordre physique (dilution, abaissement de la température) (ARMSTRONG, 1969), ces dernières éventualités n'ayant été cependant étudiées à notre connaissance qu' "in vitro".

- L'initiation de l'activité des kinigénases n'est pas le seul mode d'intervention du facteur XII car il semble également responsable du développement des phénomènes inflammatoires au cours de divers états pathologiques soit par action directe soit par activation d'autres systèmes enzymatiques (GRAHAM et coll., 1965) dont le système de la coagulation. On sait en effet que le produit terminal de la chaîne de réactions conduisant à la coagulation, c'est-à-dire la fibrine, est un élément pro-inflammatoire (BLUHM et coll., 1966) (GLYNN, 1963).
- Inversement, le facteur XII peut être court-circuité, l'activation des kinigénases pouvant résulter alors de l'action d'autres facteurs

enzymatiques protéolytiques soit d'origine plasmatique comme la plasmine après sa propre activation par la streptokinase (VOGT 1963) soit par les protéases lysosomiales ayant gagné le plasma (BAVAZZANO et coll. , 1968) en provenance des tissus ou surtout des polynucléaires (GREENBAUM et coll. , 1968) La réaction antigène - anticorps intervient aussi probablement à ce stade (BOREHAM. 1968).

Les kinigénases, ainsi activées selon un processus ou un autre sont fort nombreuses et comprennent, en dehors de la classique kallikréine plasmatique, la plasmine qui est l'enzyme de la fibrinolyse, la C'1 estérase, le facteur de perméabilité, etc (ARMSTRONG, 1969). Sous leur attaque protéolytique, le kininogène libère, en se dégradant, les kinines. Celles-ci peuvent également, il faut le noter, prendre naissance sous l'effet de la trypsine, de la pepsine, des enzymes bactériennes et de certains venins de serpent.

Les kinines subissent, elles aussi, l'action de protéases qui les inactivent, les kininases. Il semble que les polynucléaires et spécialement les éosinophiles, sont riches en enzymes de ce type (ZACHARIAE et coll., 1969).

3 - Les produits résultant de l'action des protéases

- Les protéases intervenant au cours de l'inflammation sont, nous venons de le voir, nombreuses. Elles sont aussi fort variées. Ainsi, les protéases lysosomiales comprennent non seulement plusieurs endopeptidases (les cathepsines) de diverses spécificités, mais encore des exopeptidases (amino - et carboxypeptidases).

On comprend donc à la fois que l'on puisse caractériser des peptides et des acides aminés au sein d'un tissu enflammé et que leur taux soit en corrélation avec le degré de l'inflammation (KALBHEN. 1963).

- L'origine de ces produits de la protéolyse enzymatique est certainement double : d'une part locale, résultant de la dégradation tissulaire "in situ" par les enzymes lysosomiales et d'autre part plasmatique à la suite de l'activation des kinigénases. Or, il est certain que certains des polypeptides apparaissant dans ces conditions possèdent des propriétés en rapport avec le développement des différents processus caractéristiques de l'inflammation. Déjà, en 1938 et 1940 MENKIN (1938, 1940, 1956) avait mis en évidence le rôle d'un polypeptide extrait de tissus inflammatoires, la leucotaxine. Certes, le travail de MENKIN était passible de diverses critiques quant au mode d'isolement du polypeptide (HARRIS 1954) (SPECTOR, 1958) et à la spécificité des liens existant entre les activités vasculo-perméabilisante et leucotaxique et le dit polypeptide. C'est surtout sur ce dernier point que les attaques furent les plus vives car il fut démontré que la leucotaxine de MENKIN partageait ses effets biologiques avec divers extraits de tissus pathologiques (CULLUMBINE et coll 1946) ainsi qu'avec différentes fractions définies (plusieurs polypeptides) résultant de la digestion des protéines par de nombreuses enzymes protéolytiques (DUTHIE et coll., 1939) (CULLUMBINE et coll., 1946) (SPECTOR, 1951).
- Or, on voit maintenant, compte tenu de la distribution ubiquitaire des protéases et de leur rôle dans l'inflammation que le manque de spécificité de la leucotaxine ne peut constituer un argument contre la présence et l'intervention effective de polypeptides à effets perméabilisant et leucotaxique au cours de l'inflammation. D'ailleurs, les kinines sont précisément des polypeptides. La bradykinine, la principale des kinines, est pour sa part un monopeptide de formule H-arg-pro-pro-gly-phe-ser-pro-phe-arg-OH, mais il existe aussi une L-lysyl-bradykinine et une L-méthionyl-L-lysyl-bradykinine, soit respectivement un déca- et un undécapeptide. Nous avons précédemment envisagé comment ces kinines pouvaient prendre naissance dans le plasma. Leur rôle dans l'inflammation a été étudié par ROCHA e SILVA (1964 a et b) et d'autres auteurs, (LEWIS, 1960, 1964) (WILHELM, 1962) (HORTON, 1964). Les propriétés pharmacologiques des kinines

et plus particulièrement de la bradykinine sont maintenant bien connues : ce sont la vasodilatation, l'augmentation de la perméabilité capillaire ainsi qu'un net pouvoir algogène (ELIOTT et coll., 1960), autrement dit les propriétés responsables de "calor et rubor", de "turgor" et de "dolor" pour reprendre l'antique aphorisme de CELSE

- La bradykinine apparaît donc comme le médiateur général de l'inflammation supplantant les rôles accordés à la sérotonine et à l'histamine. La première de ces amines biogènes présente en effet, au moins en ce qui concerne son action perméabilisatrice sur la paroi des capillaires, une spécificité d'espèce restreinte à la souris et au rat (WILHELM, 1962). La seconde, pour sa part intervient sans aucun doute dans les phénomènes d'ordre anaphylactique mais même dans ceux-ci, certaines manifestations comme le bronchospasme, résistent aux antihistaminiques (HAHN et coll., 1961) (GIERTZ et coll., 1961), ce qui prouve la présence d'un autre médiateur. Celui-ci n'est autre que la bradykinine qui est également douée d'une action constrictrice lente (d'où son nom) sur la fibre lisse

B - LES ANTI PROTEASES NATURELLES

- Que les protéases soient responsables des lésions organiques et des perturbations fonctionnelles de l'inflammation par intervention directe ou par l'intermédiaire des substances résultant de leur activité protéolytique, cela semble actuellement admis par de nombreux auteurs (WILHELM, 1965) (SPECTOR et coll., 1965) (BERTELLI, 1967) (UNGAR, 1969).
- Or, obéissant en cela au principe général d'homéostasie, l'organisme, s'il renferme diverses protéases, dispose aussi des moyens de s'opposer à leur activité (isolement des cathepsines dans les lysosomes) ou de les inactiver. Ce dernier processus est le fait des anti-protéases naturelles que l'on a pu isoler dans les tissus et dans le plasma.

- Pendant longtemps, en raison de la diversité des matériels d'extraction, ces anti-protéases ont été considérées comme étant différentes, d'autant que leur essai sur telle ou telle protéase conduisait à accorder à leur activité anti-protéasique une spécificité qu'elles ne possédaient pas. On sait aujourd'hui que leur effet inhibiteur vis-à-vis des protéases est au contraire large et que sous des terminologies différentes existent en fait des produits chimiquement identiques.
- La première de ces anti-protéases, l'INHIBITEUR DE FREY, porte le nom de celui qui l'a découverte dans le sérum (FREY, 1927) (FREY et coll., 1928). C'est un inhibiteur anti-kallikréine qui fut ensuite décelé dans le foie, la rate, la parotide (KRAUT et coll., 1930) et le poumon (WERLE, 1964). C'est de l'avant-dernier et surtout du dernier de ces organes, prélevés chez le boeuf, qu'est extraite la préparation commercialisée sous le nom de ZYMOFREN en France et de TRASYLOL en Allemagne et dans les pays anglo-saxons
- Ce INHIBITEUR DE FREY est un polypeptide basique ($pI^* = 10,5$) dont le poids moléculaire atteint 6510. Il est constitué par une séquence de 58 acides aminés (ANDERER et coll., 1965) (ANDERER, 1965). L'arginine et l'alanine sont les acides aminés respectivement N - et C - terminaux et il existe trois ponts S - S en positions 5 - 55, 14 - 38 et 30 - 51 qui rendent la molécule très compacte (ANDERER et coll., 1966). Tant que ces ponts disulfure n'ont pas été rompus par réduction, la chaîne peptidique résiste à l'action de toutes les enzymes protéolytiques connues (HABERLAND, 1967).
- Il semble certain que l'INHIBITEUR anti-trypsine isolé dans le pancréas par KUNITZ et NORTHROP (1936) ainsi que l'INHIBITEUR anti-plasmine extrait du poumon (ASTRUP, 1952) ne font qu'une seule et même substance avec l'INHIBITEUR DE FREY (AUHAGEN, 1966)

* pH du point isoélectrique

Celui-ci inhibe en sus de la kallicréine pancréatique (SCHULZ, 1963), la trypsine et l' α -chymotrypsine (BEUCHELT, 1963) (BACK et coll., 1968) (BERTELLI et coll., 1969) ainsi que la plasmine (FORSTER, 1969) mais s'oppose aussi à l'activation de plusieurs facteurs de la coagulation * (HABERLAND et coll., 1967) dont on sait qu'ils sont, comme les enzymes précédemment citées, des peptidases.

- L'INHIBITEUR DE FREY est donc doué d'une large activité anti-protéolytique sur laquelle sont fondées ses indications déjà anciennes (affections pancréatiques et syndromes hémorragiques par fibrinolyse) mais aussi de plus récentes (chocs traumatique, hémorragique, endotoxinique et des brûlés).

* Il faut préciser que l'INHIBITEUR DE FREY ne s'oppose pas à l'activation de la prothrombine en thrombine. Aussi, lors de son utilisation thérapeutique en tant qu'anti-fibrinolytique, son activité anticoagulante ne se fait pas sentir car cette dernière ne se manifeste qu'à partir d'une posologie trois fois supérieure à celle qu'il est suffisant d'utiliser pour avoir un effet antifibrinolytique (AMRIS, 1967)

CHAPITRE II

- - -

E T U D E P H A R M A C O L O G I Q U E

- - -

A - Considérations générales et principes de l'expérimentation

- Parmi les multiples méthodes d'essai des anti-inflammatoires décrites et critiquées au cours de nombreux articles généraux, revues et colloques (SPECTOR et coll., 1960 et 1964) (MARCY, 1961 et 1970) (TURNER, 1965) (WINTER, 1966) (SILVESTRINI, 1966 et 1968) (GARATTINI et DUKES, 1964) (LEVY et LECHAT, 1968) (BOISSIER et coll., 1970) nous avons choisi le test de l'œdème inflammatoire de la patte du rat pour les raisons suivantes :
- D'abord parce qu'il s'agit d'une inflammation juxta-et péri-articulaire, donc se rapprochant des syndromes rhumatologiques étudiés dans la partie clinique, puis pour sa grande diffusion en expérimentation ce qui permet des comparaisons aisées avec les données de la littérature, ensuite pour son caractère bien standardisé et la possibilité qu'il procure d'obtenir relativement facilement des résultats quantitatifs. Mais, ce qui nous a fait surtout retenir ce test, c'est qu'il correspond à une période de l'inflammation où prédominent les phénomènes congestifs, exsudatifs, œdémateux et douloureux qui sont en rapport direct avec les enzymes et les médiateurs dont nous avons parlé dans le premier chapitre. De plus, ce test, par le choix judicieux de l'agent phlogogène permet, dans une certaine mesure, d'obtenir des renseignements quant au mode d'action de la substance inhibant l'œdème inflammatoire ainsi provoqué.
- C'est pourquoi nous avons eu recours aux trois tests suivants :
- le test de l'œdème à la carragénine, dû à WINTER et coll. (1962) et très utilisé dans la recherche des drogues anti-inflammatoires

- le test de l'oedème à la trypsine (VOGEL et coll., 1961 et 1962) (DOMENJOZ et coll., 1965)
- le test de l'oedème à la digitonine (ARRIGONI, MARTELLI et coll., 1969)
- En général, les oedèmes expérimentaux de la patte du rat sont utilisés pour mettre en évidence les effets anti-inflammatoires de médicaments administrés par voie générale (parentérale ou entérale). Assez exceptionnellement, certains auteurs y ont eu recours pour étudier l'activité de préparations appliquées localement sur la patte enflammée (VALETTE et coll., 1958) ou injectées directement "in situ" au niveau de l'oedème inflammatoire (KALLER et coll., 1966) (GROG et coll., 1967) (GOLDSTEIN, 1968) (SHANAHAN, 1968)
- C'est cependant de cette manière que nous avons opéré, en injectant directement le ZYMOFREN dans le tissu péri- et juxta-articulaire, là-même où a été introduit l'agent phlogogène afin de nous placer dans des conditions semblables à celles de l'utilisation clinique. Ce faisant, nous avons fait varier l'administration de la drogue étudiée dans le temps par rapport à l'injection du phlogogène de sorte que l'injection de ZYMOFREN, précède le déclenchement de l'inflammation expérimentale (administration préventive), coïncide avec lui (administration simultanée) ou soit postérieure (administration curative). Lorsque le ZYMOFREN était administré en même temps que le phlogogène, une posologie croissant selon une progression géométrique de raison 2 a été employée de façon à mettre en évidence éventuellement une relation "log dose/effet".
- Bien entendu, les conditions particulières de cette expérimentation impliquent certaines servitudes qui lui sont propres. Celles-ci découlent surtout de l'impossibilité d'injecter dans la patte du rat un volume supérieur à 0,2 ml, ce qui pose sur le plan pratique des problèmes pour atteindre les concentrations désirées tant du phlogogène que du ZYMOFREN. Il faut tenir compte également de la possibilité d'une action phlogogène

locale du produit dont on veut mettre en évidence l'activité anti-inflammatoire afin de ne pas risquer de masquer cette dernière. Il est nécessaire aussi que les volumes des injections intra-plantaires chez les différents lots expérimentaux d'un même essai soient identiques et les concentrations des solutions utilisées doivent être ajustées à cet effet. Par ailleurs, il faut veiller à maintenir, au cours de l'expérimentation, une température suffisante et constante dans le laboratoire, la température ambiante influençant le développement de l'oedème inflammatoire (COHEN et coll., 1961). Enfin il est naturellement indispensable que les conditions du milieu soient identiques pour tous les animaux, qui sont, de plus, répartis par randomisation entre chaque lot expérimental.

B.- Conditions expérimentales

1.- Distribution des animaux et constitution des lots

- Chaque expérimentation est réalisée avec des rats du même sexe, de la même souche (SHERMAN le plus souvent, parfois SPRAGUE-DAWLEY) et de poids voisin. Pour des raisons d'approvisionnement il n'a pas toujours été possible d'avoir recours à des animaux identiques pour toutes les expérimentations mais par contre, dans une expérimentation déterminée, il y a homogénéité complète (poids corporel, sexe et souche) des animaux mis en oeuvre. Ces indications sont reportées sur les tableaux de résultats (SHERMAN : S, SPRAGUE-DAWLEY : S-P, MALES : M et FEMELLES : F).
- Chaque expérimentation comprend un lot témoin et un ou plusieurs lots traités comportant toujours le même nombre de rats pour un essai donné. Les animaux sont répartis par randomisation à raison de dix, douze ou vingt par lot. L'identification des lots est faite au moyen d'un code tenant compte du mode d'administration et de la nature du phlogogène comme il est précisé ci-dessous.

2.- Injection de la substance phlogogène et du ZYMOFREN et préparation des solutions

- Les injections ont toujours lieu, à l'aide d'une aiguille de 4/10, sous l'aponévrose plantaire de la patte postérieure gauche.
- Selon les cas, l'administration du ZYMOFREN précède de 5 minutes celle du phlogogène (administration préventive : P), lui succède après 30 minutes (administration curative : C) ou encore l'administration des deux substances se fait par une injection unique d'une solution les contenant toutes deux (administration simultanée : S). Le code employé pour identifier les essais comporte une première lettre correspondant au type d'administration (P, C ou S), la seconde symbolisant le phlogogène : carragénine (C), trypsine (T), digitonine (D).
- A titre d'exemple, on trouvera tableau No. 1 la préparation des solutions injectées au cours de l'essai S.C. 3 (administration simultanée de ZYMOFREN à doses croissantes et de carragénine à posologie constante) .
- Les quantités de ZYMOFREN injectées sont exprimées en Unités anti-kalllicréine (U.K.I.)
- Les modalités de l'injection de la substance phlogogène et du ZYMOFREN - horaires des injections, volumes injectés , concentrations des solutions - sont mentionnées dans les tableaux de résultats.

3.- Mesure du volume de la patte

Il est procédé à trois mesures du volume de la patte postérieure gauche au moyen du pléthysmomètre de GIONO et CHEVILLARD (MARCY, 1961) avant toute injection (volume initial = vol. H) ainsi que deux (vol. H + 2) et quatre heures (vol. H + 4) après l'injection du phlogogène.

4.- Calculs et expression des résultats

- Pour chaque animal, on calcule les pourcentages d'augmentation du volume de la patte à deux et quatre heures en faisant :

$$\frac{\text{vol (H + 2)} - \text{vol H}}{\text{vol H}} \times 100 \quad \text{et} \quad \frac{\text{vol (H + 4)} - \text{vol H}}{\text{vol H}} \times 100$$

- A partir de ces valeurs individuelles sont déterminés pour chaque lot expérimental les pourcentages moyens d'augmentation du volume de la patte (PMAVP) exprimant l'importance de l'oedème. De plus, on évalue les intervalles de confiance à $P = 0,05$ qui leur correspondent. Ces derniers figurent entre parenthèses dans les tableaux de résultats au-dessous du PMAVP. Le cas échéant, les activités sont calculées de la manière suivante : PMAVP (témoin) - PMAVP (traité). Résultant de la différence de ces deux pourcentages, les activités sont par conséquent les pourcentages d'inhibition de l'oedème chez les traités par rapport aux témoins.
- Enfin, lorsque cela s'avère nécessaire, il est procédé à une comparaison des moyennes par le t - test de STUDENT :

$$t = \frac{\bar{Y} \text{ (lot témoin)} - \bar{Y} \text{ (lot traité)}}{\sqrt{V_{\bar{Y}} \text{ (lot témoin)} + V_{\bar{Y}} \text{ (lot traité) }}}$$

($\bar{Y}$ = moyenne; $V_{\bar{Y}}$ = variance de la moyenne)

ou à une analyse des variances (rapport F des variances d'EMMENS) utilisant pour la source de variation "traités/témoins" (donc due au traitement) la formule $n_p S \bar{y}_p^2$ et pour la source de variation à l'intérieur des lots (variation due à la variabilité individuelle et aux conditions générales de l'expérimentation communes à tous les lots, c-à-d au hasard) la formule $S S y_p^2$ (n_p = nombre d'animaux/lot, $S y_p^2$ = somme des carrés des différences des valeurs individuelles vis-à-vis de la moyenne; $S S \bar{y}_p^2$ = somme des $S y_p^2$ de chaque lot, $S \bar{y}_p^2$ = somme des carrés des différences des valeurs moyennes de chaque lot vis-à-vis de la moyenne globale de l'essai).

- Un groupement de plusieurs essais est souvent réalisé afin de bénéficier, pour l'analyse statistique, de lots comprenant un nombre relativement important de valeurs individuelles. De la sorte sont constitués des pools englobant des résultats expérimentaux correspondant naturellement aux mêmes conditions expérimentales (nature de phlogogène, moment de l'administration et posologie du ZYMOFREN, horaire de mesure). Grâce à la présence des témoins groupés de la même façon il est tenu compte des autres causes de variation. Le calcul préalable de la variance permet le cas échéant de ne pas inclure dans le pool des essais pour lesquels la variance à l'intérieur des groupes (hasard) est trop importante.

C.- Résultats

Les résultats obtenus, ainsi que les éléments de leur analyse statistique sont consignés dans les tableaux Nos. 2 à 16.

Un pourcentage moyen d'augmentation du volume de la patte (PMAVP) d'un lot traité qui est inférieur au PMAVP du lot témoin correspondant est, sous réserve d'une analyse statistique, le signe d'une activité anti-inflammatoire du traitement. L'inverse correspondrait au contraire à un effet phlogogène.

D.- Interprétation des résultats

1.- Eventualité d'un effet phlogogène local propre du ZYMOFREN

- L'examen du tableau No. 2 fait apparaître que les PMAVP après injection intra-plantaire de ZYMOFREN seul sont, dans l'ensemble, du même ordre que les PMAVP après injection de sérum physiologique. Deux PMAVP traités (ZYMOFREN 25 U.K.I. à 2 heures et 100 U.K.I. à 4 heures) diffèrent toutefois apparemment des PMAVP témoins correspondants. Mais cette différence n'est pas significative car leurs intervalles de confiance à $P = 0,05$ respectifs se chevauchent comme c'est d'ailleurs le cas pour tous les PMAVP de cet essai.
- Le t - test appliqué à la comparaison des moyennes donne des probabilités de l'ordre de 0,40 à 0,30 montrant ainsi qu'il

n'existe pas de différence statistiquement significative entre les PMAVP des différents lots tant traités que témoins, c'est-à-dire entre les PMAVP secondaires à l'injection intra-plantaire de volumes identiques de ZYMOFREN ou de sérum physiologique.

- En d'autres termes, l'injection intra-plantaire de 25,50 et 100 U.K.I. de ZYMOFREN sous un volume de 0,2 ml ne fait apparaître aucun effet phlogogène propre du ZYMOFREN. Ce résultat est en contradiction avec celui de KALLER et coll. (1966) qui affirment que 100 U.K.I. (sous un volume de 0,1 ml) provoquent un oedème décelable mais sans toutefois communiquer de résultats chiffrés et sans préciser s'ils ont réalisé une comparaison vis-à-vis du sérum physiologique. Toujours d'après ces auteurs, des doses de 1000 et 10.000 U.K.I. entraîneraient des oedèmes d'importance respectivement moyenne et maximale. Quoiqu'il en soit, nous sommes en mesure d'affirmer, d'après nos résultats, que les doses de ZYMOFREN utilisées dans la suite de notre expérimentation ne présentent pas d'effet phlogogène local et par conséquent que celui-ci n'est pas susceptible de masquer une action anti-inflammatoire si elle existe.

2. - Effets sur les différents types d'oedème inflammatoire et influence du moment de l'administration

a) Oedème à la carragénine

- Vis-à-vis de l'oedème à la carragénine le ZYMOFREN ne présente pas d'action curative car le seul effet favorable enregistré (essai C.C. 1) n'est pas statistiquement significatif (tableau No. 5). Par contre, ce produit fait preuve d'une action anti-inflammatoire lorsqu'il est administré préventivement. Toutefois, les résultats partiels de chacun des essais P.C. 1, P.C. 2 et P.C. 3 ne sont pas significatifs (tableau No. 3) et ce n'est qu'après avoir groupé ces essais en pools correspondant respectivement aux témoins et aux traités pour une mesure effectuée à un temps donné que l'on peut mettre en évidence cette activité anti-inflammatoire.

Encore est-elle relativement modeste (respectivement 12 et 17 à 2 heures et 4 heures). De plus l'analyse statistique (tableau No. 4) ne reconnaît pas de caractère significatif ($0,20 > P > 0,05$) à la valeur de 2 heures. Seule celle de 4 heures (correspondant à $0,05 > P > 0,01$) est significative.

- Administré simultanément avec la carragénine, le ZYMOFREN inhibe nettement le développement de l'œdème à la posologie de 100 U.K.I. comme le montre, pour chaque essai, la comparaison des PMAVP à cette dose avec les PMAVP témoins (tableau No. 6 A). Les activités calculées à partir de ces valeurs, équivalent en général à 25 à 35 % d'inhibition de l'œdème (tableau No. 7) et sont toujours plus importantes à la mesure de 2 heures qu'à celle de 4 heures.
- Bien entendu, il importe de s'assurer que ces résultats ont une valeur statistiquement significative. Or, d'après les intervalles de confiance à $P = 0,05$ notés dans le tableau No. 6 A, on peut déduire que les PMAVP à 2 heures des animaux ayant reçu 100 U.K.I. de ZYMOFREN sont bien significativement inférieurs aux PMAVP des témoins dans les essais S.C. 1, S.C. 2 et S.C. 4. Il n'en est cependant pas de même pour l'essai S.C. 3. L'application du t - test dans ce cas fournit d'ailleurs une probabilité de $0,20 > P > 0,10$ ce qui ôte évidemment toute signification au fait que le PMAVP du lot traité soit inférieur à celui du lot témoin dans cet essai S.C. 3.
- La comparaison des variances des PMAVP à 2 heures des essais S.C. 1, S.C. 2, S.C. 3 et S.C. 4 (tableau No. 8) permet de comprendre la raison de cette différence de signification statistique entre les essais S.C. 1, S.C. 2 et S.C. 4 d'une part et S.C. 3 d'autre part. C'est la valeur très élevée de la variance de l'essai S.C. 3 qui est responsable de l'absence de signification du résultat correspondant. En effet, lorsque la variance est plus modeste, comme dans les essais S.C. 1, S.C. 2 et S.C. 4, les résultats à 2 heures sont alors

hautement significatifs ($0.01 > P > 0.001$) ainsi que le démontre l'analyse de la variance par l'étude du rapport F (tableau No. 9)

- En ce qui concerne les PMAVP à 4 heures, on voit sur le tableau No. 6 A que les intervalles de confiance à $P = 0,05$ des témoins et des traités se chevauchent, ce qui veut dire que les différences entre eux ne sont pas significatives. Mais si l'on rassemble les résultats des trois essais S.C. 1, S.C. 2 et S.C. 4 de façon à considérer un pool de traités et un pool de témoins comportant alors chacun 32 animaux (PMAVP respectifs = 124 et 147) et si l'on procède à une analyse de la variance sur ces deux pools et leur ensemble (tableau No. 10), on s'aperçoit que la différence entre les traités et les témoins est également hautement significative à 4 heures.
- Les doses inférieures à 100 U.K.I. sont visiblement moins actives (tableau No. 7) et les PMAVP des différents essais ne sont pas significativement différents des PMAVP témoins correspondants (tableau No. 6 A). L'analyse de la variance appliquée aux pools (S.C. 2 + S.C. 3 + S.C. 4) (tableaux Nos. 11 et 12) ne permet pas, à l'inverse de ce qui a été possible précédemment, de mettre en évidence une signification statistique à l'exception toutefois pour l'effet de la dose 50 U.K.I. à 4 heures.
- En résumé, en nous appuyant sur l'ensemble de l'analyse que nous venons de développer, nous pouvons affirmer que le ZYMOFREN administré à la dose de 100 U.K.I. en même temps et au même niveau que la carragénine dans la région tarsienne du rat, provoque une inhibition indiscutable du développement de l'œdème inflammatoire. Celle-ci se manifeste 2 heures et 4 heures après le déclenchement de l'inflammation, son intensité décroissant avec le temps. En dessous de 100 U.K.I. les effets obtenus sont plus faibles et, excepté celui donné par 50 U.K.I. à 4 heures, non significatifs.

b) Oedème à la trypsine

- Comme pour l'oedème à la carragénine, il n'a pas été enregistré d'effet inhibiteur du ZYMOFREN sur l'oedème à la trypsine lors de son administration curative (tableau No. 5) mais son action anti-inflammatoire est évidente s'il est administré préventivement. La signification statistique existe déjà pour les PMAVP à 4 heures de chacun des essais P.T. 1 et P.T. 2 (tableau No. 3) mais elle est de plus confirmée de manière indiscutable (H.S) sur le pool des deux essais aussi bien à 4 heures qu'à 2 heures (tableau No. 13).
- Quand le ZYMOFREN est injecté dans la patte en même temps que la trypsine, le développement de l'oedème est toujours entravé. L'effet anti-inflammatoire n'est pas très grand (activité de l'ordre de 10 à 20) mais existe toujours quelque soit l'horaire de la mesure (2 et 4 heures) et la dose utilisée (25, 50 et 100 U.K.I.). Il ne varie pas avec cette dernière.
- Les appréciations ci-dessus sont appuyées sur l'analyse statistique (S. et H.S.) réalisée selon la méthode des pools déjà appliquée précédemment (tableaux Nos. 14, 15 et 16), les résultats des divers essais (S.T. 1, S.T. 2 et S.T. 3), bien qu'indiquant une action favorable du ZYMOFREN, n'étant pas, quant à eux, significatifs (tableau No. 6 B).
- Pour sa part, l'oedème à la digitonine n'est sensible au ZYMOFREN dans aucune des diverses conditions expérimentales explorées comme au cours de l'étude des autres types d'oedème (tableaux Nos. 3, 5 et 6 B)

E - Discussion

1 - Oedème à la carragénine

- Au cours du développement de l'oedème à la carragénine chez le rat, il a été possible de caractériser l'apparition "in situ" de bradykinine (ARRIGONI MARTELLI et coll., 1969). Les quantités de ce produit que l'on peut doser dans le perfusat de la patte oedématisée recueilli selon la méthode de perfusion coaxiale de ROCHA e SILVA et coll. (1960) sont relativement élevées. Elles atteignent en effet respectivement environ 30 et 50 ng/0,5 ml de perfusat pendant les périodes de 90 à 135 minutes et de 135 à 180 minutes suivant l'injection de carragénine.
- Sous l'influence du ZYMOFREN administré par voie parentérale *, le taux de bradykinine dosable dans le perfusat diminue de façon considérable. Les doses actives sont de 10.000 et 25.000 U.K.I/Kg, les chutes du taux de bradykinine qui leur correspondent atteignant 80 et 93 %. Néanmoins, les inhibitions respectives de l'oedème sont considérablement plus faibles puisqu'elles n'atteignent que 15 et 36 % (ARRIGONI MARTELLI et coll., 1969)
- On peut donc se demander, si des médiateurs de l'inflammation autres que la bradykinine sont impliqués dans le développement de l'oedème à la carragénine. Toutefois, s'il en est ainsi, il est douteux qu'il puisse s'agir de l'histamine et de la sérotonine. En effet, le développement de l'oedème à la carragénine n'est inhibé ni par la cyproheptadine, dont la puissante activité inhibitrice vis-à-vis de l'histamine et

* Le ZYMOFREN est administré par voie I.P. 30 minutes avant l'injection de carragénine. Les déterminations de l'inhibition de l'oedème et de la formation de bradykinine ont été réalisées 3 heures après l'injection de carragénine.

de la sérotonine est bien connue, (WINTER, 1965), ni par une déplétion préalable de ces amines biogènes (ARRIGONI MARTELLI et coll., 1964). De plus, l'incubation de carragénine avec du liquide péritonéal de rat riche en mastocytes ne s'accompagne pas de la libération d'histamine ou de sérotonine à partir de ces cellules (VAN ARMAN et coll., 1965). Aussi, pour notre part, nous pensons qu'un processus osmotique intervient peut-être aussi dans le développement de l'oedème à la carragénine.

- A partir des éléments précédents, nos résultats expérimentaux peuvent être interprétés comme suit : le ZYMOFREN, lorsque sa présence dans les tissus coïncide topographiquement et temporellement avec celle de la carragénine, s'oppose à l'activité protéolytique des protéases libérées ou activées par ce phlogogène. Il en résulte que la formation de bradykinine est très inférieure à sa valeur habituelle. Le développement de l'oedème inflammatoire s'en trouve par conséquent entravé. Cette inhibition n'est toutefois pas totale, le ZYMOFREN n'étant évidemment pas susceptible de neutraliser un effet d'ordre osmotique ou de s'opposer à l'action de facteurs de perméabilité capillaire éventuels. Parmi ces derniers, on ne saurait d'ailleurs exclure une certaine proportion de bradykinine, le blocage des protéases par le ZYMOFREN n'étant vraisemblablement pas total.
- Dans un autre ordre d'idées, il est, dans une certaine mesure, possible de comparer les posologies actives sur l'oedème à la carragénine en fonction du mode d'administration. En effet, nous avons obtenu une inhibition de l'oedème de l'ordre de 15 à 30 % avec une injection locale de 100 U.K.I. de ZYMOFREN. Cette dose correspond environ à 1.000 U.K.I./Kg. Or, lorsque ARRIGONI MARTELLI et coll. (1969) injectent 10.000 et 25.000 U.K.I./Kg par la voie intra-péritonéale, les pourcentages d'inhibition de l'oedème sont respectivement de 15 et 36 %. Aussi, même en

tenant compte du fait que les conditions expérimentales ne sont pas totalement comparables, la supériorité de l'efficacité de la voie locale sur la voie parentérale nous semble démontrée

2.- Oedème à la trypsine

- Une inhibition de l'oedème à la trypsine de l'ordre de 30 % a été obtenue par DOMENJOZ et coll. (1965) par l'injection I.V. préventive de 20.000 U.K.I./Kg de ZYMOFREN alors que l'inhibition maximale atteinte dans nos essais est de 24 % (tableau No. 13), mais avec 100 U.K.I. soit environ 1.000 U.K.I./Kg seulement.
- Il est vraisemblable que l'action du ZYMOFREN sur l'oedème à la trypsine est due plus à son effet inhibiteur vis-à-vis de la kallikréine activée par la trypsine qu'à une inhibition directe de cette enzyme elle-même. Certes, le ZYMOFREN forme bien avec la trypsine un complexe inactif (GULZON et coll., 1961) (TRAUTSCHOLD et coll., 1966) mais si ce mécanisme d'action était prédominant, en devrait enregistrer une inhibition de l'oedème beaucoup plus importante comme c'est le cas avec l'Inhibiteur Trypsique du Soja (DOMENJOZ et coll., 1963)

3.- Oedème à la digitonine

La totale absence d'effet du ZYMOFREN sur l'oedème à la digitonine est tout à fait normale, ce type d'oedème ne s'accompagnant pratiquement pas de la libération de bradykinine (ARRIGONI MARTELLI et coll., 1969) et, par conséquent ne faisant pas intervenir des protéases. En réalité, la formation de cet oedème expérimental est sous la dépendance des propriétés tensioactives de la digitonine vis-à-vis desquelles il est clair que le ZYMOFREN est dénué de toute activité.

TABLEAU No. 1

Essai No. S.C.3 - Préparation des solutions destinées aux
différents lots expérimentaux

	TEMOINS	TRAITES (ZYMOFREN: Unités K.I.)		
		25	50	100
solution aqueuse Carragénine à 3 %	5 ml	5 ml	5 ml	5 ml
sérum physiologique	5 ml	3,75 ml	2,5 ml	0 ml
Solution de ZYMOFREN à 1000 U K I/ml	0	1,25 ml	2,5 ml	5 ml

Nota - On injecte 0,2 ml par voie intra-plantaire

TABLEAU No 2

ADMINISTRATION INTRA-PLANTAIRE DU ZYMOFREN SEUL
POURCENTAGES MOYENS D'AUGMENTATION DU VOLUME DE LA PATTE

No. code essai	Température ambiante	Sexe et souche	Poids corpor moyen (g)	Nombre de rats / lot	Lots TRAITEMENTS							
					50 mg ZYMOFREN (0.2 ml)				100 mg ZYMOFREN (0.2 ml)			
					25 T.K.T		50 T.K.T		100 T.K.T		Lot TEMOIN SERUM PHYSIOL. (0.2 ml)	
Z.1	24°	F/S	110	12	2 h	4 h	2 h	4 h	2 h	4 h	2 h	4 h
					46 (32-59)	32 (25-39)	39 (28-50)	29 (20-39)	29 (23-35)	12 (4-20)	38 (28-49)	26 (16-35)

- Les chiffres entre parenthèses situés sous la valeur moyenne correspondent à l'intervalle de confiance à $P = 0,05$

TABLEAU No. 3

ADMINISTRATION INTRA-PLANTAIRE PREVENTIVE DU ZYMOFREN
POURCENTAGES MOYENS D'AUGMENTATION DU VOLUME DE LA PATTE

No. code essai	Températ ambiante	Sexe et souche	Poids corp moyen (g)	Nombre de rats/lot	Lots TRAITES		Lots TEMOINS	
					ZYMOFREN = 100 U.K.I.		Sérum physiologique	
					0, 1 ml injecté 5 minutes avant le phlogogène			
					2 heures	4 heures	2 heures	4 heures

OEDEME A LA CARRAGEENINE
sol. 3 % = 0,, ml intra - plantaire

C 1	24°	M/S P	210	10	58 (43 - 72)	97 * (81 - 113)	90 (70 - 190)	136 (118-154)
C 2	24°	F/S	110	10	85 (67 - 103)	105 (84 - 126)	94 (75 - 113)	106 (83 - 130)
C 3	24°	F/S	110	12	134 (120-148)	119 (104-135)	133 (121-145)	130 (115-146)

OEDEME A LA TRYPSINE
0,0023 U.A.E. = 0,1 ml intra - plantaire

T 1	24	F/S	110	12	24 (17 - 31)	19 * (14 - 25)	37 (31 - 43)	53 (45 - 62)
T 2	24	M/S	110	12	18 (13 - 24)	8 (4 - 13)	25 (21 - 29)	23 (17 - 28)

OEDEME A LA DIGITONINE (sol. dans
alcool 5°) 100 µg = 0,1 ml intra-plantaire

D 1	24°	M/S	110	12	55 (46 - 64)	58 (47 - 70)	57 (49 - 64)	62 (53 - 71)
-----	-----	-----	-----	----	-----------------	-----------------	-----------------	-----------------

significatif à P = 0,05

ADMINISTRATION INTRA-PLANTAIRE PREVENTIVE DU ZYMOFREN

OEDEME A LA CARRAGEENINE

ZYMOFREN : 100 U.K.I

POOL DES ESSAIS P.C.1, P.C.2 et P.C.3

ANALYSE DE LA VARIANCE

No. code essai	horaires des mesures	P M A V P traités témoins	Activités	Source de variation	DL	Somme des carrés	Variance	F	p	Signification
pool	2 h	95	107	12	traités/ témoins	2398,65	2398,65			
P.C.1					hasard	79605,49	1283,95	186	0,20 >	N.S.
+P.C.2										
+P.C.3										
	4 h	108	125	17	traités/ témoins	4470,78	4470,78			
					hasard	52401,90	845,19	5,29	0,05 > P>0,01	S

S : significatif

N.S : non significatif

TABLEAU No. 5

ADMINISTRATION INTRA-PLANTAIRE CURATIVE DU ZYMOFREN
POURCENTAGES MOYENS D'AUGMENTATION DU VOLUME DE LA PATTE

No. code	Températ. ambiante	Sexe et souche	Poids corp. moyen (g)	Nombre de rtas /lot	Lots TRAITES		Lots TEMOINS	
					ZYMOFREN = 100 U.K.I.		Sérum physiologique	
					0,1 ml injecté 30 minutes après le phlogogène			
					2 heures	4 heures	2 heures	4 heures

OEDEME A LA CARRAGEENINE
sol. 2% = 0,2 ml intra - plantaire

1	24°	M/SP	240	10	41 (28 - 55)	81 (64 - 98)	67 (51 - 84)	105 (95 - 115)
---	-----	------	-----	----	-----------------	-----------------	-----------------	-------------------

OEDEME A LA CARRAGEENINE
sol. 3% = 0,1 ml intra - plantaire

2	24°	F/S	110	20	73 (61 - 84)	115 (105-125)	74 (65 - 83)	106 (95 - 117)
3	24°	F/S	110	12	134 (120-148)	119 (104-135)	133 (121-145)	130 (115-146)

OEDEME A LA TRYPSINE
0,0023 U.A.E. = 0,1 ml intra- plantaire

1	24°	F/S	110	12	31 (23 - 40)	20 (14 - 26)	31 (22 - 39)	29 (20 - 38)
---	-----	-----	-----	----	-----------------	-----------------	-----------------	-----------------

OEDEME A LA DIGITONINE (sol. dans alcool 5°)
100 ug = 0,1 ml intra - plantaire

1	24°	M/S	110	12	73 (59 - 87)	61 (54 - 69)	51 (44 - 57)	57 (46 - 67)
---	-----	-----	-----	----	-----------------	-----------------	-----------------	-----------------

TABLEAU No. 6 A

ADMINISTRATION INTRA-PLANTAIRE SIMULTANEE DU ZYMOFREN ET DU PHLOGOGENE
POURCENTAGES MOYENS D'AUGMENTATION DU VOLUME DE LA PATTE

No. code essai	Température ambiante	Sexe et souche	Poids corporel moyen (g)	Nombre de rats par lot	L o t s T R A I T E S										Lots TEMOINS	
					Z Y M O F R E N (ZYMOFREN + sér. physiol.) ^{aa} (sol. phlogogène)										SÉRUM PHYSIOL. (sér. phys) solut. (sol. phlog.)	
					injection intra - - plantaire de 0,2 ml											
					25 U.K.I.		50 U.K.I.		100 U.K.I.							
			2 h	4 h	2 h	4 h	2 h	4 h	2 h	4 h	2 h	4 h				
O E D E M E A L A C A R R A G E E N I N E sol. 2 %																
SC. 1	24°	M/SP	160	10	-	-	-	-	88*	134	150	151				
									(71-105)	(119-149)	(135-166)	(139-16				
O E D E M E A L A C A R R A G E E N I N E sol. 3 %																
SC. 2	24°	M/SP	180	10	130	149	114	134	98*	140	132	168				
					(116-145)	(135-164)	(93-135)	(121-147)	(84-112)	(120-159)	(120-145)	151-185				
SC. 3	24°	F/S	110	10	123	157	104	150	96	144	123	170				
					(101-146)	(139-176)	(87-121)	(130-170)	(65-128)	(120-168)	(92-153)	142-198				
SC. 4	24°	F/S	110	12	60	132	60	107	43*	103	69	125				
					(47-74)	(121-143)	(52-67)	(101-113)	(34-53)	(91-116)	(56-82)	117-133				

* significatif à P = 0,05

A. MINISTRIATION ENTRA-PLANTAIRE SIMULTANEE DU ZYMOFREN ET DU PHLOGOGENE
POURCENTAGES MOYENS D'AUGMENTATION DU VOLUME DE LA PATTE

No. code essai												
Température ambiante												
Sexe et souche												
poids corporel moyen (g)												
Nombre de rats par lot												
L o t s T R A I T E S												
Z Y M O F R E N												
Solution (ZYMOFREN + sér physiolo) aa (sol. phlogène)												
Injection intra - plantaire de 0, 2 ml												
25 U.K.I.				50 U.K.I.				100 U.K.I.				
2 h	4 h	2 h	4 h	2 h	4 h	2 h	4 h	2 h	4 h	2 h	4 h	

O E D E M E A L A T R Y P S I N E
0,0023 U.A.E.

ST. 1	24°	F/S	110	10					22	14*	42	63
									(10-32)	(8-20)	(24-59)	(44-82)
ST. 2	24°	F/S	110	12	28 (18-38)	18 (11-24)	39 (30-47)	28 (20-35)	38 (30-46)	18 (11-26)	45 (39-50)	31 (25-38)
ST. 3	24°	M/S	110	12	28 (24-33)	24 (18-30)	32 (26-37)	24 (20-28)	34 (28-39)	33 (26-39)	42 (37-47)	40 (35-45)

O E D E M E A L A D I G I T O N I N E
100 ug

	24°	M/S	110	12	77 (59-95)	84 (70-97)	88 (65-110)	82 (65-100)	71 (59-83)	75 (61-89)	68 (56-79)	91 (80-102)
--	-----	-----	-----	----	---------------	---------------	----------------	----------------	---------------	---------------	---------------	----------------

TABLEAU No. 7

ADMINISTRATION SIMULTANEE DU ZYMOFREN ET DE PHLOGOGENE
 OEDEME A LA CARRAGEENINE
 ACTIVITE ANTI-INFLAMMATOIRE DU ZYMOFREN EN
 FONCTION DE LA POSOLOGIE

No. code essai	25 U.K.I.		50 U.K.I.		100 U.K.I.	
	2 h	4 h	2 h	4 h	2 h	4 h
S.C.1	-	-	-	-	62	17
S.C.2	2	19	18	34	34	28
S.C.3	0	13	19	20	27	26
S.C.4	9	- 7	9	18	26	22
Pool	4	7	15	21	37	23

TABLEAU No. 8

ADMINISTRATION INTRA-PLANTAIRE SIMULTANEE DU ZYMOFREN ET DU PHLOGOGENE
O E D E M E A L A C A R R A G E E N I N E

MESURE APRES 2 HEURES

No code essai	LOTS T R A I T E S		LOTS T E M O I N S	
	Z Y M O F R E N = 100 U.K.I.		Sérum physiologique	
	P M A V P	Variance	P M A V P	Variance
S.C 1	88	569,548	150	471,315
S.C.2	98	379,103	133	322,529
S.C 3	96	1.961,621	123	1.787,746
S.C 4	43	222,424	69	421,297

PMAVP = Pourcentage moyen d'augmentation du volume de la patte

TABLEAU No. 9

ADMINISTRATION INTRA-PLANTAIRE SIMULTANEE DU ZYMOFREN ET DU PHLOGOGENE

O E D E M E A L A C A R R A G E E N I N E

EFFET ANTI - INFLAMMATOIRE APRES 2 HEURES

Z Y M O F R E N : 100 U.K.I.

A N A L Y S E D E L A V A R I A N C E

No. code essai	Source de variation	DL	Somme des carrés	Variance	F	P	Signi- fication
C 1	traités/ témoins	1	19685,92	19685,92			
	hasard	18	29054,31	1614,12	12,19	0,01>P>0,001	H.S.
C 2	traités/ témoins	1	5848,53	5848,53			
	hasard	18	12163,20	675,73	8,65	0,01>P>0,001	H.S.
C 3	traités/ témoins	1	3465,82	3465,82			
	hasard	18	37211,97	2067,33	1,67	> 0,20	N.S.
C 4	traités/ témoins	1	3874,32	3874,32			
	hasard	22	10955,36	497,91	8,07	0,01>P>0,001	H.S.

.S. = hautement significatif

.S. = non significatif

TABEAU No. 10

ADMINISTRATION INTRA-PLANTAIRE SIMULTANEE DU ZYMOFREN ET DU PHLOGGEGENE
 O E D E M E A L A C A R R A G E E N I N E
 EFFET ANTI - INFLAMMATOIRE APRES 4 HEURES
 Z Y M O F R E N 100 U K I
 POOL DES ESSAIS S C 1, S C 2 et S C 4
 A N A L Y S E D E L A V A R I A N C E

No. code essai	P M A V P trai- té- tés moins		Activités	Source de variation	DL	Somme des carrés	variance	F	P	Signi- fica- tion
pool (SC.1 +SC.2 +SC.4)	124	147	23	traités/ témoins	1	8048,96	8048,96	9,76	0,01>P>0,001	H.S
				hasard	62	51125,21	824,60			

H S. = hautement significatif

ADMINISTRATION INTRA-PLANTAIRE SIMULTANEE DU ZYMOFREN ET DU PHILOGENE
 OEDEME A LA CARRAGEENINE
 ZYMOFREN ; 50 U.K.I.
 POOL DES ESSAIS SC 2, SC 3 et SC 4
 ANALYSE DE LA VARIANCE

No code essai	horai- res des mesures	P M A V P traités- tés moins	Activités	Source de variation	DL	Somme des carrés	Variance	F	P	Signi- fica- tion
pool (SC 2 SC 3 + SC 4)	2 h	91	15	traités/ témoins	1	3577,47	3577,47			
				hasard	62	86635,46	1397,34	2,56	0,20 > P > 0,05	N.S.
	4 h	131	21	traités/ témoins	1	7319,10	7319,10			
				hasard	62	44771,24	722,11	10,13	0,01 > P > 0,001	H.S.

H.S. : hautement significatif

N.S. : non significatif

ADMINISTRATION INTRA-PLANTAIRE SIMULTANEE DU ZYMOFREN ET DU PHLOGEENE

O E D E M E A L A C A R R A G E N I N E

Z Y M O F R E N : 25 U.K.I.

POOL DES ESSAIS S.C. 2, S.C. 3 et S.C. 4

A N A L Y S E D E L A V A R I A N C E

No, code essai	horaires des mesures	P M A V P traités témoins	Activités	Source de variation	DL	Somme des carrés	Variance	F	P	Signi- fica- tion
pool (SC. 2	2 h	102	106	4	1	209,09	209,09			
				hasard	62	101180,79	1631,948	0,13	P>0,20	N.S.
+SC. 3	4 h	145	152	7	1	809,02	809,02			
				hasard	62	52082,47	840,04	0,96	P>0,20	N.S.

N.S. = non significatif

TABLEAU No. 13

ADMINISTRATION INTRA-PLANTAIRE PREVENTIVE DU Z Y M O F R E N
 O E D E M E A L A T R Y P S I N E
 Z Y M O F R E N : 100 U.K.I.
 POOL DES ESSAIS P T. 1 et P T 2
 A N A L Y S E D E L A V A R I A N C E

No. code essai	horaires des mesures	P M A V P traités moins	Source de variation	DL	Somme des carrés	variance	F	P	Signi- fica- tion
pool (PT. 1 + PT. 2)	2 h	21	traités/ témoins	1	1178,26	1178,26			
		31	hasard	46	5900,08	128,26	9,18	> 20,000	H.S
	4 h	14	traités/ témoins	1	6991,70	6991,70			
		38	hasard	46	17471,38	379,81	18,40	< 0,001	H.S

H.S = hautement significatif

TABLEAU No. 14

ADMINISTRATION INTRA-PLANTAIRE SIMULTANEE DU ZYMOFREN ET DU PHLOGOGENE

O E D E M E A L A T R Y P S I N E

Z Y M O F R E N : 100 U.K.I

POOL DES ESSAIS S.T. 1, S.T. 2 et S.T. 3

A N A L Y S E D E L A V A R I A N C E

No. code essai	horaire des mesures	P M A V P traités / témoins	Activités	Source de variation	DL	Somme des carrés	variance	F	p	Signi- fica- tion
pool (ST. 1 + ST. 2 + ST. 3)	2 h	32	43	11	1	2157,30	2157,30	9,34	0,01 > P > 0,001	H.S.
	4 h	22	43	21	1	7676,52	7676,52	5,45	0,05 > P > 0,01	S

H.S. = hautement significatif

S = significatif

TABLEAU No 15

ADMINISTRATION INTRA-PLANTAIRE SIMULTANEE DU ZYMOFREN ET DU PHLOGEENE

O E D E M E A L A T R Y P S I N E

Z Y M O F R E N : 50 U. K. I.

POOL DES ESSAIS ST. 2 et ST. 3

A N A L Y S E D E L A V A R I A N C E

No. code essai	horaire des mesures	P M A V traités moins	Activités	Source de variation	DL	Somme des carrés	variance	F	P	Signification
pool (ST. 2 + ST. 3)	2 h	35	43	8	8	43	770,30	117,11	6,58	0,05 > P > 0,01 S
	4 h	26	35	9	9	35	1116,05	113,59	9,83	0,01 > P > 0,001 H.S.

S = significatif

HS = hautement significatif

TABLEAU No. 16

ADMINISTRATION INTRA-PLANTAIRE SIMULIFANEE DU ZYMOFREN ET DU PHLOGOGENE

O E D E M E A L A T R Y P S I N E

Z Y M O F R E N : 25 U.K.I.

POOL DES ESSAIS S.T. 2 et S.T. 3

A N A L Y S E D E L A V A R I A N C E

No. code essai	horaire des mesures	P M A V P trai- té- tés moins	Activités	Source de variation	DL	Somme des carrés	variance	F	P	Signi- fica- tion
pool (ST.2 + ST.3)	2 h	28	43	15	1	2699,64	2699,64			
					46	7341,06	159,59	16,92	<0,001	H.S.
	4 h	21	35	14	1	2489,33	2489,33			
					46	7200,65	156,54	15,90	<0,001	H.S.

H.S. = hautement significatif

CHAPITRE III

- - -

E T U D E C L I N I Q U E

- - -

A - ANALYSE DES TRAVAUX ANTERIEURS

1. - Conditions générales des essais

- Introduit initialement en thérapeutique pour le traitement de la pancréatite aiguë, l'INHIBITEUR DE FREY (ZYMOFREN-N.D) a vu ses indications s'élargir aux syndromes hémorragiques par fibrinolyse ainsi qu'aux états de choc. Mais le ZYMOFREN paraît également susceptible de prescriptions en Rhumatologie à condition toutefois de substituer à l'administration I.V. des injections locales sous la forme d'infiltrations intra- et para-articulaires.
- En effet, il y a trois ans, MEYER-MOLLERINGHOF (1968) révélait les effets favorables du ZYMOFREN administré "in situ" dans plusieurs cas d'arthropathies inflammatoires et dégénératives. Depuis, d'autres auteurs (UEBEL, 1969) (OTTE, 1969) (CRUZ FILHO, 1969) (DURRELMAN, 1969) (BOUTELIER, 1969) (RIFFAT et coll., 1970) (DU LAC et coll., 1970) (GENETY et coll., 1971) ont continué l'expérimentation clinique du ZYMOFREN dans des affections relevant de la Rhumatologie et un symposium (MATIS, 1969) a même été partiellement consacré à l'injection intra-articulaire du ZYMOFREN.

On peut évaluer l'ensemble des cas traités publiés à environ 2 700, les travaux français ne participant à ce total, il faut le remarquer, que pour une fraction très modeste (230 cas). La majeure partie des cas traités est constituée par des affections articulaires et para-articulaires de type dégénératif, moins du dixième seulement répondant à des processus inflammatoires. Le nombre d'observations prises en considération par un auteur donné

est assez variable. Il se situe assez souvent entre vingt et quarante, mais il existe aussi quelques séries plus importantes, de l'ordre d'une ou plusieurs centaines, ces dernières portant toutes sur les arthroses.

- Le recrutement des malades est généralement assez hétérogène du point de vue du sexe et des classes d'âge. A titre d'exemple, la communication de THUMB et coll. (1970) porte sur trente-huit sujets âgés de 26 à 76 ans, dont trente-trois sont des femmes. En ce qui concerne le diagnostic, la même remarque que précédemment peut être faite. Ainsi, la communication de RIFFAT et coll. (1970) fait état de 50 malades à décomposer comme suit : 19 polyarthrites rhumatoïdes, 22 arthroses (dont 11 du genou, 8 de la hanche, 2 du coude), 3 périarthrites de l'épaule, 2 hémarthroses, 1 tuberculose du genou, 2 épicondylites et 1 goutte.
- Un tel recrutement, assez courant, correspond à celui d'un service hospitalier, mais on trouve également des recrutements plus homogènes comme les 120 tendinites en milieu sportif de GENETY et coll. (1971) ou les 150 gonarthroses de UEBEL (1969) dont la plupart sont post-traumatiques.
- Habituellement, il n'est pas spécifié si d'autres traitements sont appliqués ou non pendant la période d'essai du ZYMOFREN. Toutefois FILHO (1969) précise que le ZYMOFREN était la seule thérapeutique locale utilisée, mais que les traitements généraux en cours avant l'essai du ZYMOFREN étaient poursuivis.
- Le mode d'administration du ZYMOFREN, purement intra-articulaire dans la grande majorité des communications, est également para-articulaire dans les dernières publications parues. Lorsque l'articulation injectée présente un épanchement, celui-ci est d'abord ponctionné.
- Dès la publication "princeps" de MEYER-MOLLERINGHOF (1968), les auteurs allemands disposaient apparemment de TRASYLOL (dénomination allemande du ZYMOFREN, rappelons-le) à une concentration de 10.000 U.K.I./ml car la posologie employée

par eux est de 25.000 à 50.000 U.K.I. pour une injection unique. Il est en effet exclu que cette dose ait pu être administrée sous la forme de la solution à 1.000 U.K.I./ml, qui était la seule commercialisée en France jusqu'à maintenant, car elle eut nécessité l'injection de 25 ml. Au contraire, avec la solution à 10.000 U.K.I./ml, le volume à administrer qui est alors de 2,5 ml pour 25.000 U.K.I. est compatible avec une injection intra-articulaire, tout au moins lorsqu'il s'agit de l'articulation de la hanche ou de celle du genou. Il semble même, d'après la discussion générale du symposium de Munich (MATIS, 1969), qu'une solution de TRASYLOL encore plus concentrée (20.000 U.K.I./ml) existe en Allemagne.

Ce n'était malheureusement pas le cas dans notre pays et, parmi les auteurs français, RIFFAT, DOMENACH et DURRLEMAN (1970), qui font état de 50 malades ainsi que nous l'avons mentionné précédemment, n'ont été en mesure de traiter en fait que 5 malades (le 1/10 de leur effectif total) avec du ZYMOFREN à 10.000 U.K.I./ml. Ils ont alors administré des doses de 25.000 U.K.I. comme les auteurs allemands, mais dans tous les autres cas, (soit 45 malades) la posologie adoptée était de 2.500 U.K.I. pour les petites articulations (poignet, cheville, première métacarpo-phalangienne) et 5.000 U.K.I. pour les grosses (hanche et genou), les volumes respectifs injectés étant alors 2,5 et 5 ml. Ce sont des volumes assez importants, les auteurs allemands (MATIS, 1969) préconisant le volume de 2,5 ml pour la hanche et le genou.

A l'inverse de RIFFAT et coll. (1970), BOUTELIER (1969), DU LAC et TUOT (1970), ainsi que GENETY et PERNIN (1971) ont eu à leur disposition du ZYMOFREN à 10.000 U.K.I./ml dès le début de leurs travaux et ont injecté des doses variant, selon les auteurs et les articulations en cause, de 5.000 à 25.000 U.K.I. en passant par 15.000 U.K.I.

- D'une façon générale, la répétition des injections et le rythme de celles-ci a été fonction des résultats obtenus. Unique dans les cas très favorables, l'injection intra-articulaire a été répétée une, deux ou trois fois à un intervalle d'une ou plusieurs semaines ou parfois après quelques jours seulement (MEYER-MOLLERINGHOF, 1968). Le nombre d'injections a été parfois porté à cinq ou six séparées par un intervalle d'une semaine comme dans la communication de THUMB et coll. (1970).
- Les critères d'appréciation des effets obtenus concernent la douleur, l'inflammation et la mobilité, mais ils ne sont appliqués de manière systématique aux différents cas étudiés que dans le travail de RIFFAT et coll. (1970). Le plus souvent, l'appréciation de l'activité du ZYMOFREN fait en effet l'objet d'un jugement global tel que "amélioration subjective ou objective" ou encore "bonne action antalgique", les nuances étant apportées à l'occasion de commentaires sur quelques cas précis.
- Il importe de signaler la méthode comparative mise en oeuvre par MEYER-MOLLERINGHOF (1968) puis par UEBEL (1969) et CRUZ FILHO (1969) dans quelques observations particulièrement intéressantes où le malade est porteur d'arthropathies bilatérales symétriques. Cette disposition est mise à profit par ces auteurs pour traiter une articulation par le ZYMOFREN, l'autre ne recevant soit aucune injection soit une injection d'un corticostéroïde ou d'un anesthésique local. Le malade constitue, de la sorte, son propre témoin au cours de la même période de temps. Mais en règle générale, la comparaison avec un autre traitement se fonde sur deux périodes différentes et en pratique les effets obtenus avec le ZYMOFREN sont rapprochés de ceux d'un traitement antérieur par les corticostéroïdes.
- La durée des effets du ZYMOFREN est appréciée par des examens successifs se prolongeant plus ou moins dans le temps selon les auteurs (quelques jours, quelques semaines, quelques mois). Elle atteint exceptionnellement 2 ans

(MEYER-MOLLERINGHOF cité par MATIS 1969).

- Le recours à des critères biologiques (étude cytologique et biochimique de la synovie) n'a eu lieu qu'une fois (THUMB et coll., 1970) et n'est pas démonstratif. Par ailleurs, il n'est pas fait appel à un contrôle radiologique, si bien que l'évaluation des effets du ZYMOFREN est strictement d'ordre clinique.
- Enfin, l'estimation de la tolérance générale et surtout locale contribue à l'appréciation de l'intérêt des infiltrations de ZYMOFREN.

2 - Résultats

- Sur les 2 672 cas que nous avons relevé dans la littérature, 2 103 ont été améliorés par l'infiltration locale de ZYMOFREN, soit un pourcentage global d'amélioration de près de 80 %.
- L'analyse des résultats ne peut malheureusement pas porter sur l'ensemble des cas précédents, car les données fournies pour certaines séries nous ont paru constituer une base insuffisante. Néanmoins, en retenant 1.924 cas et en distinguant parmi eux les processus inflammatoires (126) de ceux d'ordre dégénératif (1.798), nous avons noté des effets positifs du traitement local par le ZYMOFREN dans respectivement 105 et 1.551 cas. Ces résultats sont même supérieurs au pourcentage global précédent puisqu'ils correspondent à 83 % d'effets favorables dans les arthropathies inflammatoires et à 90 % dans les arthropathies dégénératives.
- L'apport de la littérature sur le ZYMOFREN administré en intra- ou para-articulaire ne se limite pas, bien sûr, aux lignes ci-dessus. Le lecteur trouvera les autres renseignements issus de notre étude bibliographique au § B - 3 où ils servent d'éléments de discussion de nos propres résultats.

B. - OBSERVATIONS PERSONNELLES

1.- Méthodologie

- Nous n'ignorons pas le luxe de précautions (sélection très rigoureuse des malades, grand nombre de ceux-ci, épreuves standardisées destinées à quantifier l'examen clinique, etc...) dont les auteurs américains s'entourent pour l'étude d'une drogue rhumatologique (COULSTON, 1968). Ne disposant pas de leurs moyens, nous avons travaillé dans les conditions habituelles de notre milieu hospitalier en nous efforçant d'être le plus rigoureux possible.

a) Caractéristiques des malades

- Nos sujets sont des malades de consultation externe rhumatologique appartenant aux deux sexes. Leur nombre total est de 39 soit 23 femmes et 16 hommes. Les âges extrêmes étant 77 et 19 ans, la répartition en classes d'âge est la suivante :

- au-dessus de 70 ans	9
- de 60 à 70 ans	8
- de 50 à 60 ans	12
- de 40 à 50 ans	7
- de 30 à 40 ans	2
- de 20 à 30 ans	0
- moins de 20 ans	1

- Le diagnostic a été posé par l'interrogatoire et l'examen clinique avec, bien entendu, chaque fois que cela était nécessaire, un contrôle radiologique et des essais biologiques (VS, sérologie, examen du liquide d'épanchement articulaire, biopsie synoviale).

- En fonction du diagnostic, nous avons établi la classification ci-dessous :

- arthropathies inflammatoires :

- polyarthrite rhumatoïde	7 cas
- hydarthrose inflammatoire	2 cas
- rhumatisme psoriasique	1 cas
total	10 cas

- arthropathies dégénératives :

- arthroses :

- arthrose acromio-claviculaire	1 cas
- rhizarthrose du pouce	1 cas
- gonarthrose	4 cas

- tendinites et péri-tendinites :

- périarthrites scapulo-humérales	
- épaule douloureuse simple	8 cas
- épaule douloureuse avec	
rupture de la coiffe	3 cas
- syndrome épaule-main	1 cas
- épicondylite	1 cas
- tendinites	
- du poignet	1 cas
- du genou	3 cas
- du tendon d'Achille	2 cas
- acroparesthésies de compression	
- syndrome du canal carpien	3 cas
- syndrome du canal tarsien	1 cas
total	29 cas

La majorité de ces malades avait reçu un ou des traitements antérieurs dont le résultat a été noté afin d'être utilisé comme élément de comparaison avec le ZYMOFREN. Par ailleurs, un certain nombre de sujets était soumis à un traitement général (par voie orale et/ou parentérale). Bien entendu, la nature et les modalités de ce traitement ont été soigneusement relevées. Il s'agit souvent de drogues antirhumatismales (salicylés, pyrazolés, indométhacine, antipaludiques, immuno-dépresseurs, corticoïdes) et on peut se demander si, dans ces conditions, il est licite de rapporter un éventuel effet favorable au ZYMOFREN plutôt qu'au traitement associé. En réalité c'est là un faux problème, car lorsque l'on débute les injections de ZYMOFREN, les malades sont depuis une longue période au traitement en cause. Ce traitement, qui devient alors le "traitement associé (au ZYMOFREN)", a une activité propre dont on connaît bien les aspects et les limites chez le malade et dont par ailleurs il n'est pas question de priver le patient. C'est donc par rapport à l'état du malade dans ces conditions qu'est jugée l'efficacité du ZYMOFREN, toute amélioration de l'état défini précédemment étant à mettre à son actif, la localisation de l'administration et des effets apportant des éléments de certitude supplémentaires.

b) Forme pharmaceutique du produit étudié, posologie et modalités de l'administration.

- A l'exception de 8 cas où nous avons employé des ampoules de 5 ml dosées à 5.000 U.K.I. (concentration à 1.000 U.K.I./ml nous avons toujours utilisé des ampoules de ZYMOFREN de 2,5 ml dosées à 25.000 U.K.I. * (concentration à

* Nous n'avons pas employé l'autre présentation nouvelle de ZYMOFREN (ampoules de 10 ml dosées à 100.000 U.K.I.) mais il s'agit de la même concentration à 10.000 U.K.I./ml)

10.000 U.K.I./ml). Quelle que soit la concentration, il a été injecté une ampoule par infiltration, l'injection, selon les résultats obtenus, demeurant unique ou étant renouvelée 3 à 5 fois avec des intervalles de 4 à 8 jours.

- L'administration du ZYMOFREN a été réalisée par voie intra-articulaire dans les arthrites et les arthroses proprement dites et sous forme d'infiltrations para-articulaires dans les tendinites en s'efforçant d'introduire le produit au point de souffrance tendineuse "in loco dolenti".

c) Critères d'appréciation et cotation des résultats

- Les résultats du traitement sont appréciés en fonction du degré de mobilité, de l'indolence et de la sédation des phénomènes inflammatoires secondaires au traitement. L'aspect objectif ou purement subjectif des améliorations est pris en considération.
- Il n'a pas été fait appel à des examens biologiques ou radiologiques car, d'après les travaux antérieurs, ils paraissent inutiles. Par contre, il est tenu compte d'un critère socio-professionnel, la reprise de l'activité; notre mode de recrutement correspondant à des consultants externes se prêtant parfaitement à cette estimation.
- En conséquence, la cotation suivante a été adoptée :

T.B = pratiquement "restitutio ad integrum" et reprise de l'activité

B = sédation sensiblement complète de la douleur et restitution de la mobilité articulaire de l'ordre de 75 %;

- reprise de l'activité malgré la persistance de quelques phénomènes douloureux ne la gênant pas.

A.B = léger gain de la mobilité,

- impression subjective d'amélioration,
- persistance d'une douleur spontanée et provoquée ainsi que d'une limitation de la mobilité relativement importante par rapport à l'état antérieur,
- l'activité ne peut pas être reprise, car si la sédation est importante, au repos, la douleur réapparaît à la mobilisation.

O = pas d'effet ou amélioration très partielle, purement subjective et non confirmée par l'examen.

- Seule l'amélioration à court terme est prise ici en considération en raison de l'insuffisance du recul dont nous disposons. Nous sommes cependant parfaitement conscient de l'importance du facteur "durée des effets favorables" parmi les éléments de jugement d'une telle thérapeutique et cet aspect sera développé dans une communication ultérieure.
- La tolérance a été, de son côté, systématiquement recherchée par l'interrogatoire et l'examen.

2.- Résultats obtenus

a) Résultats globaux

	O	A.B	B	T.B	total des effets positifs	total général
nombre de cas	10	6	16	7	29	39
pourcentage	26 %	15 %	41 %	18 %	74 %	-

b) Résultats fractionnés

selon que l'on pratique des injections à 5 000 ou
à 25 000 U.K.I., les résultats se présentent ainsi :

dosage	0	A.B	B	T.B	total des effets positifs	total général
5 000 UKI	3 (33%)	1 (11 %)	3 (33 %)	2 (22 %)	6 (67 %)	9
25 000 UKI	7 (23 %)	5 (17 %)	14 (47 %)	4 (13 %)	23 (77 %)	30

La séparation entre les phénomènes inflammatoires et
dégénératifs donne :

type des arthro - ses	0	A.B	B	T.B	total des effets positifs	total général
inflamma toire	2 (20 %)		2 (60 %)	2 (20 %)	8 (80 %)	10
dégéné- ratif	8 (28 %)	6 (21 %)	10 (34 %)	5 (17 %)	21 (72 %)	29

- A l'intérieur des arthropathies dégénératives, la répartition suivante peut être encore faite

type des arthropathies dégénératives	O	A. B	B	T B	total des effets positifs	total partiel	total général
arthrose	2 (33 %)		3 (50 %)	1 (17 %)	4 (67 %)		6
tendinite et péri-tendinite	6 (26 %)	6 (26 %)	7 (30 %)	4 (17 %)	17 (74 %)		23
périarthrite scapulo-humérale	4 (33 %)	6 (50 %)	2 (17 %)		8 (67 %)	12	
épicondylite	1					1	
tendinite des extrémités	1 (17 %)		2 (33 %)	3 (33 %)	5 (83 %)	6	
anropares-thésie de compression			3 (75 %)	1 (25 %)	4 (100 %)	4	
Total						23	29

Enfin si l'on considère la tolérance, on constate que celle-ci est bonne dans 33 cas (soit 85 %) et non satisfaisante dans 6 cas (soit 15 %).

3 . Discussion et essai de confrontation pharmacologique

a) Activité du ZYMOFREN dans les divers types d'arthropathie

- Notre série de malades est modeste et manque d'homogénéité aussi nous garderons-nous de solliciter abusivement les pourcentages. Néanmoins, notre pourcentage global d'effets favorables (74 %) est sensiblement du même ordre que celui de la littérature. Il en est de même lorsqu'on envisage séparément l'activité du ZYMOFREN sur les arthropathies inflammatoires et dégénératives encore que l'avantage vis-à-vis de ces dernières paraisse être inversé dans notre série en faveur des premières
- Parmi nos arthropathies inflammatoires, sur les 7 cas de polyarthrite rhumatoïde, nous avons enregistré 2 "T.B", 3 "B" et 2 "O", l'un de ces deux "O" correspondant à un sujet traité par 5.000 U.K.I. de ZYMOFREN seulement. C'est dire que l'efficacité du traitement local par le ZYMOFREN dans la polyarthrite rhumatoïde est manifeste.
- Mise en évidence par MEYER-MOLLERINGHOF (1968) à l'aide de la méthode comparative bilatérale signalée précédemment, cette activité avait cependant été niée par THUMB et coll. (1970) qui, sur 10 cas, relevaient en effet 3 améliorations seulement pour 6 échecs dont 3 aggravations. Postérieurement, CRUZ FILHO (1969) et RIFFAT et coll. (1970) enregistraient à l'inverse 16 et 15 résultats favorables sur respectivement 25 et 19 polyarthrites rhumatoïdes. Plus particulièrement ces derniers auteurs concluaient à une action du ZYMOFREN plus régulière dans les polyarthrites que dans les arthroses et cependant, rappelons-le, la solution utilisée dans la plupart de leurs cas était de faible concentration (1.000 U.K.I./ml). D'après nos résultats, nous ne pouvons que partager leur opinion.
- Toujours dans le domaine des arthropathies inflammatoires, signalons que nos 2 hydarthroses inflammatoires ainsi que notre cas de rhumatisme psoriasique ont été améliorés par le ZYMOFREN intra-articulaire de façon nette (notation B).

Ainsi se trouve confirmée l'activité du traitement dans les affections articulaires inflammatoires.

- Parmi nos observations, nous n'avons pas d'arthrite goutteuse, mais il nous paraît cependant nécessaire de signaler l'efficacité du ZYMOFREN sur cette affection

ACTIVITE DU ZYMOFREN SUR L'ARTHRITE GOUTTEUSE		
nombre de		Auteurs
succès	cas	
4	4	CRUZ FILHO (1969)
1	1	DU LAC et coll. (1970)
1	1	RIFFAT et coll. (1970)

- Nos résultats cliniques et ceux de la littérature sont parfaitement cohérents avec ceux de notre expérimentation pharmacologique. En effet, rappelons que nous avons démontré l'efficacité de l'injection locale de ZYMOFREN vis-à-vis de deux types d'oedème inflammatoire où l'intervention de la bradykinine est prouvée. Or, la présence de kinines a été détectée dans les exsudats articulaires d'arthropathies inflammatoires diverses dont la polyarthrite rhumatoïde (MELMON et coll., 1967). Signalons, pour respecter la vérité, que nous avons obtenu expérimentalement des résultats favorables lors des administrations préventive et simultanée de ZYMOFREN mais non dans le traitement curatif. Mais ce fait doit être interprété en tenant compte d'une caractéristique des tests anti-inflammatoires que les pharmacologues connaissent bien : l'action favorable d'un anti-inflammatoire, fût-il très actif, ne peut être mise en évidence sur les oedèmes aigus de la patte du rat que dans

la mesure où son administration est réalisée préventivement.

- Dans les arthroses de notre étude, le ZYMOFREN a montré moins d'efficacité bien que le pourcentage global des effets favorables demeure très honorable (67 %). Les résultats positifs correspondent à une arthrose acromio-claviculaire (B), un genou douloureux chronique avec chondro-calcinose (T.B), une hydarthrose traumatique du genou (B) et une rhizarthrose des deux pouces (B). Quant aux échecs, ils concernent deux gonarthroses. MEYER-MOLLERINGHOF (1968), faisant pour sa part état de 19 arthroses, avait eu 19 succès dont 6 extrêmement satisfaisants. De très bons résultats ont été également obtenus par les auteurs qui ont publié à sa suite.
- En particulier, la série des gonarthroses de DU LAC et TUOT (1970), avec ses 30 améliorations sur 32 cas est digne d'intérêt. Ainsi nous a-t-il semblé nécessaire de porter notre attention sur les gonarthroses de nos observations car ce sont précisément elles qui, avec l'échec de la thérapeutique dans 2 cas sur 4, sont responsables de l'abaissement de notre pourcentage d'effets positifs dans les arthroses. Nous avons d'abord pensé que l'existence d'une ostéo-nécrose du condyle chez un de nos échecs pouvait constituer une explication, mais la série de DU LAC et coll. (1970) comporte 2 excellents résultats sur 2 ostéonécroses du genou. D'un autre côté, en exceptant l'ostéonécrose, qui s'accompagnait aussi d'un épanchement, on peut remarquer que les deux hydarthroses du genou (l'une avec un liquide mécanique, l'autre avec un liquide mixte) ont très bien réagi au ZYMOFREN (cotations respectives B et T.B). Enfin, si l'on peut souligner que le dernier échec de nos cas de gonarthrose est une gonarthrose bilatérale sur genu valgum très marqué ne présentant aucune poussée inflammatoire, il n'est cependant guère possible de tirer des conclusions de ces diverses considérations.

- Les tendinites et péri-tendinites représentent notre série la plus importante (23 cas) et nos succès thérapeutiques s'y élèvent à 74 %. Ce pourcentage supérieur au précédent est en partie dû aux téno-synovites qui ont très bien réagi au traitement. Ce sont 4 syndromes tunnelaires (1 canal tarsien : B, 3 canal carpien dont 1 goutteux = 2 B et 1 T.B). Une ténosynovite sténosante de QUERVAIN a également bénéficié du traitement par le ZYMOFREN (T.B). Nos 3 gonalgies (2 par tendinite de la patte d'oie et une par enthèse du ligament latéral interne) ont été bien améliorées (2 B et 1 T.B), elles aussi. Par contre, sur 2 tendinites achilléennes, l'une a reçu la cotation "T.B" mais l'autre "0"

Au membre supérieur, notre unique épicondylite a été un échec, mais le traitement par le ZYMOFREN a donné des résultats favorables dans 8 de nos 12 périarthrites scapulo-humérales, les échecs englobant les 3 ruptures de coiffe. Quant aux succès, ils ont été relevés dans les épaules douloureuses simples (dont une aiguë) et le syndrome épaule-main, les cotations étant "A,B". Les bons résultats dont nous avons pu nous féliciter dans les tendinites et péri-tendinites sont à rapprocher de ceux de GENETY ET PERNIN (1971). Ces auteurs rapportent des résultats très favorables (65 % des cas) sur une série de 101 cas d'enthésites et de téno-synovites de sportifs. Ils considèrent le ZYMOFREN comme "le meilleur traitement des tendinites achilléennes, même les plus anciennes et les plus rebelles".

Dans le domaine des arthropathies dites dégénératives, il serait illusoire de procéder à une confrontation pharmaco-clinique, car nos modèles expérimentaux correspondent uniquement à des processus inflammatoires. Il n'est par contre pas inutile de rappeler ici que le cartilage est susceptible d'être attaqué par des protéases

avec libération de mucopolysaccharides (THOMAS et coll., 1960). Or, ces protéases peuvent être libérées "in situ" à partir des lysosomes des chondrocytes eux-mêmes. C'est donc par leur action anti-protéolytique sur ces protéases que le ZYMOFREN agirait dans l'arthrose, mais en réalité la pathogénie de l'arthrose est encore trop mal connue pour que l'on puisse affirmer quoi que ce soit en ce domaine (RYCKEWAERT et coll., 1968) (PEYRON, 1969) (KAHN, 1970).

b) Caractéristiques topographiques et cinétiques de l'action du ZYMOFREN

- Les effets favorables du ZYMOFREN, de même que les éventuels phénomènes d'intolérance, demeurent localisés. Par conséquent, dans une polyarthrite, seules les articulations injectées bénéficient du traitement comme nous l'avons toujours observé pour notre part. Cet aspect de l'action du ZYMOFREN était d'ailleurs implicitement admis lorsque nous avons rapporté la méthode comparative de MEYER-MOLLERINGHOF (1968) sur deux articulations symétriques.
- Il ne faudrait toutefois pas en conclure que le ZYMOFREN lui-même reste au niveau où il a été injecté. Certes, son séjour dans les articulations doit être favorisé par le trophisme certain qu'il présente vis-à-vis du cartilage; c'est du moins ce qu'il ressort des études autoradiographiques effectuées sur la souris après injection I.V. de ZYMOFREN marqué par ¹³¹I (ARNDTS et coll., 1970). Cependant, la durée de son séjour "in situ" varie certainement en fonction du lieu d'injection (intra- ou para-articulaire), des conditions du milieu local et de la nature des complexes éventuels que cette anti-protéase forme avec les protéases. Son passage dans le liquide interstitiel puis le sang est donc probablement lent, expliquant ainsi la persistance de son action locale et l'absence d'effets généraux. En effet, ces derniers exigent,

pour se manifester, une concentration sanguine suffisamment élevée qui n'est jamais atteinte, le ZYMOFREN sanguin se concentrant très rapidement dans le rein (KALLER, 1967). L'élimination urinaire qui s'ensuit est responsable de la faible valeur de la demi-vie plasmatique du ZYMOFREN = 150 minutes (BACK, 1967).

- Partageant encore cette caractéristique avec les réactions d'intolérance, l'action bénéfique du ZYMOFREN se manifeste avec rapidité. MEYER-MOLLERINGHOF (1968) la décrivait comme "eine geradezu frappante Sofortwirkung" (= une action immédiate tout à fait frappante) et précisait que le temps de latence après l'injection était de 2 à 5 minutes, chiffre retrouvé aussi chez THUMB et coll. (1970). Certains de nos malades ont été soulagés aussi très précocément, c'est-à-dire dans les 5 à 20 minutes succédant à l'injection. D'autres ont ressenti les effets favorables du ZYMOFREN plus tardivement, mais cependant en moyenne dès les premières 24 heures, alors que les malades de BOUTELIER (1969) ont du parfois attendre 48 heures. La durée de l'amélioration due au ZYMOFREN est plus difficile à préciser. La persistance des effets bénéfiques dépend du nombre, du rythme des injections et bien entendu de l'affection en cause, mais nous manquons personnellement du recul nécessaire pour l'apprécier correctement. Dans la littérature, on relève en général des durées d'action de l'ordre d'une semaine à un mois, de rares cas privilégiés bénéficiant encore de l'amélioration obtenue 2 ans après (MEYER-MOLLERINGHOF cité par MATIS, 1969).
- La confrontation pharmaco-clinique présente ici un intérêt assez limité, mais nous pouvons toutefois faire remarquer que, sur l'oedème à la carragénine, l'activité du ZYMOFREN décroissait avec le temps.

c) Influence de la posologie

- Globalement, nous avons obtenu 77 % de résultats positifs avec des injections à 25 000 U.K.I. de ZYMOFREN et 67 % lorsque nous avons administré 5.000 U.K.I. seulement. En raison du faible nombre des cas traités avec ce dosage (9), on ne peut raisonnablement pas déduire de la différence de ces pourcentages que la posologie faible soit réellement moins efficace que la forte.
- Rappelons à ce sujet les bons résultats obtenus par RIFFAT et coll. (1970) avec le ZYMOFREN à 1.000 U.K.I./ml (injections de 2.500 ou 5.000 U.K.I.)
- Par ailleurs dans notre expérimentation pharmacologique, nous avons obtenu une inhibition semblable de l'oedème à la trypsine quelle que soit la dose utilisée (25,50 et 100 U.K.I.). Or, entre 25 et 100 U.K.I. le rapport est voisin de celui qui existe entre 5.000 et 25.000 U.K.I.
- N'oublions cependant pas que la seule dose de 100 U.K.I. s'était montrée susceptible d'entraver le développement de l'oedème à la carragénine et que l'un de nos 2 échecs sur les arthroses inflammatoires est une polyarthrite rhumatoïde traitée par la dose faible de 5.000 U.K.I. En outre, tous les travaux allemands, qui représentent la grosse majorité des essais cliniques, ayant été réalisés avec des dosages forts, il est vraisemblable que leur haut pourcentage de réussite soit lié à cette posologie.

d) Comparaison avec l'administration locale de corticostéroïdes

- Sur un plan pratique, la comparaison des effets du ZYMOFREN avec les corticostéroïdes administrés par la même voie, est fort utile. Dans l'ensemble, nous avons eu plus de satisfaction avec le ZYMOFREN qu'avec les corticostéroïdes. En effet, dans certains cas d'échec du ZYMOFREN (par exemple une épaule douloureuse chronique avec rupture de la coiffe),

les corticostéroïdes ne se sont pas montrés plus efficaces et surtout le ZYMOFREN a donné de bons résultats dans plusieurs observations (syndrome épaule-main, épaule douloureuse simple), alors que les corticostéroïdes n'avaient été à l'origine d'aucune amélioration.

- Nous rejoignons par conséquent les opinions des auteurs qui ont publié avant nous et qui s'expriment par les pourcentages suivants :

Pourcentages de cas où l'action du ZYMOFREN a été			Auteurs
inférieure	identique	supérieure	
18 %	45 %	36 %	BOUTELIER (1969)
35 %	19 %	47 %	DU LAC et coll. (1970)
à celle des corticostéroïdes			

- De plus, le ZYMOFREN n'est pas susceptible d'engendrer les effets secondaires néfastes et bien connus des corticostéroïdes sur le plan général. En outre, signalons que le ZYMOFREN ne présente aucun des deux inconvénients des suspensions de corticostéroïdes, à savoir le risque, très rare il est vrai, de nécrose tendineuse et celui, moins exceptionnel, de constitution d'une arthrite microcristalline, dont les caractères inflammatoires font appréhender une injection septique.

c) Tolérance locale et innocuité générale du ZYMOFREN

- Chez 33 de nos 39 malades, l'injection du ZYMOFREN a été parfaitement tolérée. Les intolérances, au nombre de 6 (15 % des cas seulement), correspondent à 4 infiltrations para-articulaires (2 syndromes du canal carpien et 2 épaules douloureuses simples) et à 2 injections intra-articulaires (l'une au niveau de la trapézo-métacarpienne pour rhizarthrose du pouce, l'autre dans l'articulation scapulo-humérale pour un syndrome épaule-main).

En général la douleur, rarement intense, apparaissait le plus souvent au moment de l'injection, mais parfois aussi une à deux heures après. Demeurant localisée, elle cédait en quelques heures. Toutefois, pour l'algodystrophie du membre supérieur, le malade s'est plaint d'une douleur très vive d'apparition immédiate et se prolongeant pendant trois jours. La cause de cette douleur est très probablement la distension de la capsule, siège d'une capsulite rétractile, par le volume de liquide injecté. Précisons, afin de ramener cette observation à ses justes proportions, que le phénomène algique considéré s'est développé au niveau d'une articulation déjà très douloureuse spontanément.

- Il est difficile de dire si des phénomènes de sensibilité individuelle sont en cause car si dans certains cas, la douleur est réapparue chez le même sujet lors d'infiltrations itératives, dans d'autres au contraire elle devenait plus discrète ou même ne se reproduisait pas.

Les observations de CRUZ FILHO (1969) sont un peu différentes des nôtres quant à la durée du phénomène douloureux apparaissant éventuellement à l'injection. Celui-ci, d'après cet auteur, disparaît dès la fin de l'infiltration. Pour leur part, DU LAC et TUOT (1970) ont noté dans 9 cas sur 60 une réaction douloureuse quelques minutes après l'injection.

de ZYMOFREN. Leur pourcentage (15 %) est identique au nôtre. BOUTELIER (1969) a signalé également une douleur locale modérée dans 2 cas sur 18 (soit 11 %) durant pour l'un 3 minutes et pour l'autre une heure. Remarquons en passant que BOUTELIER explique l'importante douleur locale enregistrée dans un cas de rhizarthrose par la distension capsulaire due à l'injection de 25 000 U.K.I. de ZYMOFREN (soit 2,5 ml). Or, nous avons eu, nous aussi, une réaction douloureuse à l'infiltration trapézo-métacarpienne d'une rhizarthrose par 12.500 U.K.I., c'est-à-dire un volume deux fois moindre.

- Cette discussion ne doit pas faire perdre de vue la relative rareté de ces incidents d'intolérance locale et RIFFAT et coll. (1970) n'ont pas tort de parler de la "tolérance évidente" du ZYMOFREN. Un point pourtant nous semble devoir être encore précisé. En effet, THUMB et coll. (1970) rapportent "ein massiggradiger lokaler Reizzustand". Ces termes se traduisent par "un état d'irritation locale modérée". Or, jamaïs nous n'avons détecté le moindre signe d'inflammation locale dont l'injection de ZYMOFREN aurait pu être rendu responsable.
- Cette dernière constatation clinique est en accord avec nos résultats pharmacologiques qui ont exclu une action phlogogène propre du ZYMOFREN.
- Par ailleurs, nous n'avons à déplorer aucun accident infectieux, mais ce serait une grave erreur de négliger pour autant les règles strictes d'asepsie qui président aux infiltrations intra-articulaires sous le fallacieux prétexte que le mécanisme d'action du ZYMOFREN n'implique pas, comme c'est le cas des corticostéroïdes, une dépression des réactions immuno-cellulaires.
- Les accidents généraux sont exceptionnels à la suite d'une injection intra-articulaire de ZYMOFREN. Personnellement, nous n'en avons pas observé, mais nous avons relevé dans

la littérature une réaction vertigineuse (DU LAC et coll., 1970), une urticaire généralisée (BOUTELIER, 1969) et une chute tensionnelle dont l'importance était moyenne et la durée brève. (THUMB et coll., 1970)

- Là encore, il y a concordance entre la clinique et la pharmacologie, l'innocuité du ZYMOFREN étant démontrée, dans cette dernière discipline, par la valeur extrêmement élevée des Doses Léthales 50 par voie I.V. chez diverses espèces animales (BACK, 1967) :

espèce animale	D L 50 (I.V) (U.K.I./Kg)
souris	2 660 000
rat	2 800 000
lapin	500 000
chien	2 500 000

- Injecté par voie I.V., le ZYMOFREN produit une hypotension mais seulement si l'injection est rapide, ce qui est assez banal
- Par ailleurs, le ZYMOFREN est dénué d'effets toxiques subaigus et chroniques ainsi que tératogénétiques (BACK, 1967)
- L'antigénicité du ZYMOFREN a été mise en évidence chez le lapin et le cobaye. Cependant chez l'homme, l'incidence des réactions allergiques ou pseudo-allergiques, dans lesquelles le ZYMOFREN paraissait être en cause, est estimée à moins de 1 pour 100 (BACK, 1967).

C O N C L U S I O N S

- - -

- Le travail exposé dans les pages qui précèdent avait pour but de mieux connaître les modalités d'action d'une anti-protéase naturelle, l'INHIBITEUR DE FREY OU ZYMOFREN (N.D), et de préciser ses indications en Rhumatologie par la voie intra- et para-articulaire. Il comprend une expérimentation pharmacologique et une étude clinique.

* * * * *

- L'expérimentation pharmacologique, qui a nécessité 628 rats, a mis en oeuvre la technique de l'oedème inflammatoire expérimental de la patte chez cet animal. Nous nous sommes volontairement limité à cette technique, mais nous avons employé des phlogogènes de diverses natures de telle sorte que l'expérimentation a été réalisée sur les trois tests suivants :

- l'oedème à la carragénine
- l'oedème à la trypsine
- l'oedème à la digitonine.

- Le ZYMOFREN a été administré localement selon trois modes différents :

- préventivement
- simultanément
- curativement

par rapport à l'injection du phlogogène.

- Compte tenu des mécanismes propres à chacun de ces oedèmes et en nous aidant de l'analyse statistique, nous avons pu démontrer de manière certaine l'effet inhibiteur du ZYMOFREN injecté "in situ" sur le développement des processus inflammatoires aigus liés à la libération de bradykinine, elle-même secondaire à l'intervention des protéases.

* * * * *

- L'étude clinique a porté sur une série relativement modeste de 39 cas correspondant à

- 10 arthropathies inflammatoires
 - dont 7 polyarthrites rhumatoïdes
- 29 arthropathies dégénératives
 - dont 6 arthroses
 - et 23 tendinites et péri-tendinites

- Le ZYMOFREN a été administré localement par voie intra- ou para-articulaire selon les affections en cause.
- Nous avons obtenu 74 % de résultats positifs globaux, l'effet favorable se manifestant plus nettement dans les phénomènes d'ordre inflammatoire (80 %) que dans ceux relevant de processus dégénératifs (72 %).

* * * * *

- La confrontation pharmaco-clinique et l'exploitation des données biologiques existantes permettent de comprendre les effets très favorables de l'injection locale de ZYMOFREN dans les arthropathies. Celles-ci en effet impliquent l'intervention (certaine et relativement massive lorsqu'elles sont inflammatoires, plus ou moins probable et modeste quand elles sont dégénératives) de protéases (lysosomiales

ou plasmatiques agissant directement par dégradation de certaines structures anatomiques et indirectement par libération de polypeptides (bradykinine) aux propriétés algogène et vasculo-perméabilisante.

- L'administration "in situ" de l'anti-protéase qu'est le ZYMOFREN neutralise les protéases et de la sorte s'oppose transitoirement aux conséquences organiques et surtout fonctionnelles de leur action, atténuant ou faisant disparaître ainsi la séméiologie qui les exprime.

* * * * *

- Exempt de toxicité générale et doué d'une bonne tolérance locale (85 % de nos cas), le ZYMOFREN n'est responsable d'aucun des effets secondaires fâcheux des corticostéroïdes et des anti-inflammatoires non stéroïdiens.
- Efficace, rapide dans son action et bien toléré, le ZYMOFREN représente donc, à notre avis, une importante acquisition thérapeutique rhumatologique. Mais en outre, et ce n'est pas là son moindre intérêt, il ouvre une voie nouvelle en ce domaine, celle des anti-protéases.
- .. En effet, le succès très réel du ZYMOFREN ne doit pas faire oublier deux de ses inconvénients qui ne sont pas négligeables : sa durée d'action relativement limitée (bien qu'elle ne soit pas généralement inférieure à celle des corticostéroïdes) et l'obligation de recourir à des injections intra-articulaires. En d'autres termes, l'efficacité mais aussi les limites du ZYMOFREN justifient l'entreprise de recherches pharmacologiques tendant à développer de nouvelles anti-protéases. D'autres arguments viennent s'inscrire dans la même ligne; ce sont d'une part le certain degré d'activité anti-protéolytique que manifestent "in vitro" divers anti-inflammatoires non-stéroïdiens (acides salicylique, méfénamique et flufénamique, chloroquine,

phénylbutazone, indométhacine) et d'autre part l'activité anti-inflammatoire expérimentale d'anti-protéases naturelles (inhibiteur tryptique du soja) ou de synthèse (acides ϵ - amino-caproïque et tranexamique).

- Une telle recherche pourrait débiter, nous semble-t-il, par les étapes suivantes :
 - inventaire des diverses anti-protéases connues comme telles et des substances qui, par leur structure chimique, se rapprochent de corps doués d'une activité anti-protéolytique;
 - exploration systématique "in vitro" de l'activité inhibitrice de ces produits sur le système des kininogénases et son évaluation quantitative lorsqu'elle existe;
 - recherche de l'activité anti-inflammatoire expérimentale des produits ainsi sélectionnés au moyen de tests simples des anti-inflammatoires.
- Après ce tri préliminaire, les études pharmacologiques, toxicologiques et métaboliques réduiront, comme chacun sait, dans de larges proportions les produits que l'on soumettra au jugement souverain du clinicien.
- Mais le nombre de ces produits risque d'être encore trop grand vis-à-vis des capacités de recrutement et de sélection des malades. Il en résulterait alors soit un retard dans l'obtention de l'opinion - capitale - du clinicien, soit une diminution de la validité de ses résultats, si ceux-ci se trouvaient fondés sur un nombre trop restreint de cas. C'est pourquoi le pharmacologue, conscient à la fois du caractère déterminant et de la difficulté des essais cliniques, se doit de restreindre au maximum le nombre des produits qu'il demande au clinicien d'essayer.

- Ainsi, dans le problème précis qui nous préoccupe, il nous apparaît qu'une sélection supplémentaire pourrait être réalisée par le pharmacologue en considérant la nécessité d'un arthrotropisme positif. Celui-ci est indispensable pour que le produit demeure le plus longtemps possible au niveau de l'articulation. Cet arthrotropisme pourrait résulter d'une propriété générale comme la faible diffusibilité à travers les séreuses; encore ne faudrait-il pas perdre de vue que les séreuses enflammées sont toujours plus perméables que les séreuses saines. Naturellement, le mode d'administration du produit serait alors limité à l'infiltration intra-articulaire. Aussi, un arthrotropisme spécifique, dû par exemple à une affinité vis-à-vis du cartilage, serait beaucoup plus intéressant. En effet, une anti-protéase douée d'une telle activité présenterait le grand avantage de pouvoir être administrée par voie générale, à condition toutefois d'avoir, à l'inverse du cas précédent, une bonne diffusibilité et de ne pas exercer d'effet inhibiteur sur d'autres systèmes protéolytiques comme celui de la coagulation.
- Conçue dans l'esprit que nous venons d'exposer, réalisée avec rigueur et la liaison pharmacologue - clinicien étant précoce et constante, une recherche des anti-protéases utiles en Rhumatologie ne manquerait pas d'intérêt. Puisant dans les ressources de l'organo-synthèse et les richesses des substances naturelles, les produits à étudier ne lui manqueraient guère. Quant à son succès, c'est affaire de travail... et de patience. La solution, ou plutôt une des solutions, au problème posé n'est d'ailleurs peut-être pas loin, car, pensons-y, des anti-protéases naturelles existent dans les exsudats inflammatoires eux-mêmes et le sérum sanguin des animaux et des hommes souffrant d'une affection inflammatoire.
-

B I B L I O G R A P H I E

(146 références)

- - -

- ALLISON (A)
in Lysosomes in Biology and Pathology (cité par DINGLE)

- AMRIS (C.J)
Scand. J. Haematol., 1967, 4, 3

- ANDERER (F.A) et S. HORNLE
Zschr. Naturforsch., 1965, 20, 457 et
J. Biol. Chem., 1966, 241, 1568

- ANDERER (F.A)
Zschr. Naturforsch., 1965, 20, 462

- APPEL (W.VON), H. HERMANN et E. HUTH
Z. klin. Chem. u. klin. Biochem., 1969, 7, 576

- ARMSTRONG (D)
in Inflammation Biochemistry and Drug Interaction -
International Symposium, Como, 1968 (éd. A. BERTELLI,
J.C. HOUCK) - Excerpta Medica Foundation, 1969, page 153

- ARNDTS (D), K.O. RAKER, P. TOROK et E. HABERMANN
Arzneim. Forsch., 1970, 20, 667

- ARRIGONI MARTELLI (E) et I. CONTI
Farmaco, Ed. prat., 1964, 19, 134

- ARRIGONI MARTELLI (E), N. CORSICO et E. FOGAGNOLO
in Inflammation Biochemistry and Drug Interaction -
International Symposium, Como, 1968 (éd. A. BERTELLI,
J.C. HOUCK) - Excerpta Medica Foundation, 1969, page 185

B I B L I O G R A P H I E

(146 références)

- - -

- ALLISON (A)
in Lysosomes in Biology and Pathology (cité par DINGLE)

- AMRIS (C.J)
Scand. J. Haematol., 1967, 4, 3

- ANDERER (F.A) et S. HORNLE
Zschr. Naturforsch., 1965, 20, 457 et
J. Biol. Chem., 1966, 241, 1568

- ANDERER (F.A)
Zschr. Naturforsch., 1965, 20, 462

- APPEL (W.VON), H. HERMANN et E. HUTH
Z. klin. Chem. u. klin. Biochem., 1969, 7, 576

- ARMSTRONG (D)
in Inflammation Biochemistry and Drug Interaction -
International Symposium, Como, 1968 (éd. A. BERTELLI,
J.C. HOUCK) - Excerpta Medica Foundation, 1969, page 153

- ARNDTS (D), K.O. RAKER, P. TOROK et E. HABERMANN
Arzneim. Forsch., 1970, 20, 667

- ARRIGONI MARTELLI (E) et I. CONTI
Farmaco, Ed. prat., 1964, 19, 134

- ARRIGONI MARTELLI (E), N. CORSICO et E. FOGAGNOLO
in Inflammation Biochemistry and Drug Interaction -
International Symposium, Como, 1968 (éd. A. BERTELLI,
J.C. HOUCK) - Excerpta Medica Foundation, 1969, page 185

- ASTORGA (G) et A. J. BOLLET
Arthr. and Rheum., 1965, 8, 511

- ASTRUP (T)
Acta Physiol. Scand., 1952, 26, 243

- AUHAGEN (E)
in Proceedings 1 st. International Symposium on Drugs
of Animal Origin., Milan, 1964. Ferro, Milan 1966,
page 69

- BACK (N)
in Proceedings of a Symposium on Proteinase Inhibition
in Medicine and Surgery - Royal Society of Medicine -
Londres, 1967. éd. FBA Pharmaceuticals Ltd., page 12

- BACK (N) et R. STEGER
Fed. Proc., 1968, 27, 96

- BAVAZZANO (A), E. DEL BENE, B. ANSELMi et F. SICUTERI
Rass. Neurol. veg., 1968, 23, 56

- BAZIN (S) et A. DELAUNAY
C.R. Acad. Sci., 1968-a, 266 D, 9, 973

- BAZIN (S) et A. DELAUNAY
C.R. Acad. Sci., 1968-b, 266 D, 10, 1095

- BERTELLI (A)
Path. Biol., 1967, 15, 163

- BERTELLI (A), L. DONATI et J. MAREK
in Inflammation Biochemistry and Drug Interaction -
International Symposium, Como, 1968 (éd. A. BERTELLI
et J. C. HOUCK) - Excerpta Medica Foundation -
Amsterdam, 1969, page 66

- BEUCHELT (H)
Medizin und Chemie, 1963, 7, 763

- BLUHM (G.B), J.M. RIDDLE et M.I. BARNHART
Henry Ford Hosp. Med. Bull., 1966, 14, 119

- BOISSIER (J.R), J.M. LWOFF et F. HERTZ
Thérapie, 1970, 25, 46

- BOREHAM (P.F.L)
Brit. J. Pharmacol , 1968, 32, 493

- BOUTELIER (D)
Thérapeutique (Semaine des Hôpitaux), 1969, 45, 671

- COHEN (Y) et P. GOT
C.R. Acad. Sci., 1961, 253, 2421

- COULSTON (F)
in Inflammation-Aetiopathogenic, clinical and therapeutic problems International Symposium, Bologne, 1967
(éd. B. SILVESTRINI et S. TURA) - Excerpta Medica
Foundation, 1968, page 184

- CRUZ FILHO (A)
O Hospital, 1969, 76, 1433

- CULLUMBINE (H) et H.N. RYDON
Brit. J. Exp. Pathol , 1946, 27, 33

- DE DUVE (C), B.C. PRESSMAN, R. GIANETTO, R. WATTIAUX et
F. APPLEMAN
Biochem. J., 1955, 60, 604

- DE DUVE (C)
Triangle, 1970, 10, 167

- DINGLE (J.T) et H.B. FELL
Lysosomes in Biology and Pathology,
North-Holland Publ. Co., Amsterdam, 1969

- DOMENJOZ (R) et K. MORSDORF
in Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs, International
Symposium, Milan, 1964 (éd. S. GARATTINI et M.N.G. DUKES)
Excerpta Medica Foundation, 1965, page 162

- DONALDSON (V.H) et R.R. EVANS
Amer. J. Med., 1963, 35, 37

- DONALDSON (V.H)
J. Exp. Med., 1968, 127, 411

- DU LAC (Y) et H. TUOT
Rhumatologie, 1970, 22, 365

- DURRLEMAN (P)
Utilité d'un inhibiteur de protéinases par voie intra -
articulaire dans le traitement des arthropathies in -
flammatoires et dégénératives.
Thèse de Doctorat en Médecine - LYON, 1969

- DUTHIE (E.S) et E. CHAIN
Brit. J. Exp. Path., 1939, 20, 417

- ELLIOT (D.F), E.W. HORTON et G.P. LEWIS
J. of Physiol. (Lond), 1960, 153, 473

- ENNIS (R.S), J.L. GRANDA et A.S. POSNER
Arthr. Rheum., 1968, 11, 756

- FELL (H.B) et J.T. DINGLE
Biochem. J., 1963, 87, 403

- FORSTER (O)

in Inflammation Biochemistry and Drug Interaction -
International Symposium, Como, 1968 (éd. A. BERTELLI
et J.C. HOUCK) Excerpta Medica Foundation 1969. page 53

- FREY (E.K)

Arch. Klin. Chir., 1927, 148, 643

- FREY (E.K) et H. KRAUT

Arch. exp. Path. Pharmacol., 1928, 132, 1

- FREY (E.K)

Therapiewoche, 1953-54, 4, 323

- GAJDOS (A)

Presse Médicale, 1966, 74, 923 et 981

- GARATTINI (S) et M.N.G. DUKES

Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs - International
Symposium, Milan, 1964 (éd. S. GARATTINI et M.N.G. DUKES)
Excerpta Medica Foundation, 1965

- GENETY (J) et E. PERNIN

Cahiers Médicaux Lyonnais, 1971, 47, 135

- GIERTZ (H), F. HAHN, W. OPFERKUCH et W. SCHMUTZLER

Arch. exp. Path. Pharmacol., 1961, 242, 42

- GLYNN (L.E)

Bull. Rheum. Dis., 1963, 14, 323

- GOLDSTEIN (S), R. DE MEO et I. SHERMANO

Proc. Soc. exptl. Biol. Med., 1968, 128, 980

- GOLUB (E.S) et J.K SPIZYNAGEL
J Immunol. 1965, 95, 1060

- GOROG (P) et L. SZ ORNY
Med Pharmacol exp., 1967, 16, 105

- GRAHAM (R.C), E.H EBERT, O.D. RATNOFF et J M MOSES
J. exp Med., 1965, 121, 807

- GREENBAUM (L M), M.C. CARRARA et R. FREER
Fed Proc., 1968, 27, 90

- GRIMALDI (M.G)
in Inflammation-Aetiopathogen: clinical and therapeutic
problems. International Symposium, Bologne, 1967
(éd B SILVESTRINI et S TURA) - Excerpta Medica
Foundation, 1968, page 199

- GUERIN (B), C SORIA, J. SOLNICA et M.F KAHN
in L Actualité Rhumatologique présentée au praticien
par les Médecins du Centre VIGGO PETERSEN sous la
direction de S. de SEZE, Expansion 1969 page 95

- GULZOW (M), H.J. TRETTIN et K. DIWOK
Klin. Wschft., 1961, 11, 597

- HABERLAND (G.L) et P. MATIS
Med Welt, 1967, 22, 1367

- HABERLAND (G.L)
in Proceedings of a Symposium on Proteinase Inhibition
in Medicine and Surgery. Royal Society of Medicine,
London, 10 october 1967, éd.: FBA Pharm Ltd., page 6

- HAHN (F), H. GIERTZ et W. SCHMUTZLER
Int. Arch. Allergy, 1961, 18, 62

- HARRIS (H)
Physiol. Rev., 1954, 34, 529

- HIRSCHHORN (R), W. TROLL, G. BRITTINGER et G. WEISSMANN
Nature (Lond.), 1969, 222, 1247

- HOLLINGSWORTH (J.W.) et E. ATKINS
Yale J. Biol. Med., 1965, 38, 11

- HORTON (E W)
in Symposium on Injury, Inflammation and Immunity;
éd. Miles Lab., 1964, page 254

- JAQUET (H)
Arch. Int. Pharmacodyn., 1963, 144, 161

- KAHN (M.F)
Concours Médical, 1970, 17, 92

- KALBHEN (D.A)
Arch. Int. Pharmacodyn., 1963, 143, 337

- KALLER (H), F. HOFFMEISTER et G. KRONEBERG
Arch. Int. Pharmacodyn., 1966, 161, 398

- KALLER (H)
in Bericht über Symposien in Bad Godesberg und in
München. 1967, éd. R. MARX, H. IMDAHL et G. L. HABERLAND -
F. K. SCHATTAUER-Verlag, page 13

- KELLERMEYER (R W) et R.T. BRECKENRIDGE
J. Lab. Clin. Med., 1965, 65, 307

- KERBY (G.P) et S.M. TAYLOR
Proc. Soc. exp. Biol., 1967, 126, 865

- KRAUT (H), E.K. FREY et E. WERLE
Z. physiol. Chem., 1930, 192, 1

- KUNITZ (M) et J.H. NORTHROP
J. Gen. Physiol., 1936, 19, 991

- LANDERMAN (N.S), M.E. WEBSTER, E.L. BECKER et H.E. RATCLIFFE
J. Allergy, 1962, 33, 330

- LAURENTACI (G)
in Inflammation Biochemistry and Drug Interaction -
International Symposium, Como, 1968 (éd. A. BERTELLI
et J.C. HOUCK) - Excerpta Medica Foundation, 1969, page 330

- LEHMAN (M.A), J. KREAM et D. BROGNA
J. Bone Jt. Surg., 1964, 46 A, 1732

- LEVY (J) et P. LECHAT
Etude expérimentale des anti-inflammatoires, 12^e et 13^e
confrontations pharmacologiques, Paris 1966 Doin, 1968

- LEWIS (G.P)
Physiol. Rev., 1960, 40, 647

- LEWIS (G.P)
in Symposium on Injury, Inflammation and Immunity;
éd. Miles Lab., 1964, page 242

- LUSCOMBE (M)
Nature (Lond.), 1963, 197, 1010

- MARCY (R)
Prod. Pharm., 1961, 16, 402

- MARCY (R)

in G. VALETTE, P. ROSSIGNOL, Y. COHEN, R. MARCY,
P. REYNAUD, M. MIOCQUE, R. BOULU, M. PESEZ, J. MARTEL
et P. BELLET - Médicaments Organiques de Synthèse
(Collection publiée sous la direction de L. VELLUZ,
Membre de l'Institut) - tome III, Masson édit.
Paris, 1970, pages 199 à 240

- MAREK (J)

in Inflammation Biochemistry and Drug Interaction -
International Symposium, Como, 1968 (éd. A. BERTELLI
et J.C. HOUCK) - Excerpta Medica Foundation, 1969, page 76

- MARGOLIS (J)

J. Physiol. (Lond.), 1958-a, 144, 1

- MARGOLIS (J)

Nature (Lond.), 1958-b, 182, 1102

- MARGOLIS (J)

J. Physiol. (Lond.), 1960, 151, 238

- MARGOLIS (J)

in Symposium on Hypotensive Peptides (éd. E.G. ERDOS,
N. BACK and F. SICUTERI) - Springer-Verlag, New York,
1966, page 198

- MATIS (P)

Med. Welt, 1969, 52, 2812

- MELMON (K.L), M.E. WEBSTER, S.E. GOLDFINGER et J.E. SEEGLER

Arthr. Rheum., 1967, 10, 13

- MENKIN (V)

J. Exp. Med., 1938, 67, 129

- MENKIN (V)
Dynamics of Inflammation. éd. Mac Millan, New York, 1940
- MENKIN (V)
Biochemical Mechanisms in Inflammation. éd. Thomas.
Springfield, 1956
- MEYER - MOLLERINGHOF (W)
Med. Welt, 1968, 27, 1588
- MITROVIC (D), K. DELAUNAY, A. JULLIARD, M.F. KAHN, D. HIOCO
et S. DE SEZE - Path. Biol., 1969, 17, 3-4, 143
- MITROVIC (D) et S. DE SEZE
Revue du Rhumatisme, 1970, 37, 741
- OTTE (P)
Dtsch. med. J., 1969, 20, 604
- PEYRON (J.G)
in l'Actualité Rhumatologique présentée au praticien
par les Médecins du Centre VIGGO PETERSEN sous la
direction de S. DE SEZE, Expansion, 1969, page 189
- RIFFAT (G) M. DOMENACH et P. DURRLEMAN
Rhumatologie, 1970, 22, 19
- ROCHA e SILVA (M) et A. ANTONIO
Med exp 1960 3, 371
- ROCHA e SILVA (M)
in Symposium on Injury, Inflammation and Immunity,
éd. Miles Lab., 1964-a, page 220
- ROCHA e SILVA (M)
Ann. N.Y. Acad. Sci., 1964-b, 116, 899

- ROCHA e SILVA (M), J. GARCIA LEME et J.M. DE SOUZA
in Inflammation Biochemistry and Drug Interaction -
International Symposium, Como, 1968 (éd. A. BERTELLI et
J.C. HOUCK) - Excerpta Medica Foundation, 1969, page 170

- RYCKEWAERT (A), D. KUNTZ, P. DREYFUS, M. MAITRE
in L'Actualité Rhumatologique présentée au praticien
par les Médecins du Centre VIGGO PETERSEN sous la
direction de S. DE SEZE, Expansion, 1968

- SAFIA WASI T. URIUHARA, N.S. TAICHMAN, R.K. MURRAY et
H Z. MOVAT - Experientia, 1966, 22, 196

- SCHULZ (F)
Medizin und Chemie, 1963, 7, 750

- SHANAHAN (R W)
Arch. int. Pharmacodyn., 1968, 175, 186

- SICUTERI (F), A. BAVAZZANO et B. ANSELMi
in Inflammation Biochemistry and Drug Interaction -
International Symposium, Como, 1968 (éd. A. BERTELLI et
J.C. HOUCK) Excerpta Medica Foundation, 1969, page 145

- SILVESTRINI (B)
in Methods in Drug Evaluation (éd. P. MANTEFAZZA et
F. PICCININI) North-Holland Publ. Co., 1966, page 46

- SILVESTRINI (B), S. TURA et W.G. SPECTOR
Inflammation - International Symposium, Bologne, 1967
(éd. B. SILVESTRINI et W.G. SPECTOR)
Excerpta Medica Foundation, 1968

- SMITH (C) et D. HAMERMAN
Arthr. and Rheum., 1962, 5, 411

- SPECTOR (W.G)
J. Path. Bacteriol., 1951, 63, 93
- SPECTOR (W.G)
Pharmac. Rev., 1958, 10, 475
- SPECTOR (W.G) et D.A. WILLOUGHBY
J. Pathol. Bacteriol., 1960, 79, 21
- SPECTOR (W.G) et D.A. WILLOUGHBY
in Evaluation of Drug Activities - Pharmacometrics
(éd D.R. LAURENCE et A.J. BACHARACH) Acad. Press, 1964,
Vol 2, page 815
- SPECTOR (W.G) et D.A. WILLOUGHBY
in The Inflammatory Process (éd B.W. ZWEIFACH, L. GRANT
et R.T. Mc CLUSKEY) Acad. Press., 1965
- THOMAS (L), R.T. Mc CLUSKEY, G.L. POTTER et G. WEISSMANN
J. Exp. Med., 1960, 111, 705
- THUMB (N), P. WEIDINGER et K. ATEFI
Wien Ztschrift. Inn. Med., 1970, 51
- TRAUTSCHOLD (I), E. WERLE et ZICKGRAF-RUDEL
Arzneim. Forsch., 1966, 16, 1507
- TURNER (R.A.)
Screening methods in Pharmacology, Acad. Press, 1965,
XIII. Antiinflammatory Agents, page 152
- UEBEL (H)
Münch. med. Wschr., 1969, 111, 1630

- UNGAR (G)
in Inflammation Biochemistry and Drug Interaction -
International Symposium, Como, 1968 (éd. A. BERTELLI et
J.C. HOUCK) - Excerpta Medica Foundation, 1969

- VALETTE (G), M. HUERRE et L. ZIZINE
Ann. Pharm. Fr., 1958, 16, 397

- VAN ARMAN (C.G), A.J. BEGANY, L.M. MILLER et H.H. PLESS
J. Pharmacol. exp. Ther., 1965, 150, 328

- VOGEL (G) et M.L. MAREK
Arzneim. Forsch., 1961, 11, 1051

- VOGEL (G) et M.L. MAREK
Arzneim. Forsch., 1962, 12, 815

- VOGT (W)
J. of Physiol. (Lond.), 1963, 169, 45 P

- WEISS (L) et J.T. DINGLE
Ann. Rheum. Dis., 1964, 23, 57

- WEISSMANN (G)
New Engl. J. Med., 1965-a, 273, 1084

- WEISSMANN (G), B. BECHER, G. WIEDERMANN et A.W. BERNHEIM
Amer. J. Path., 1965-b, 46, 129

- WEISSMANN (G)
Arthr. and Rheum., 1966, 9, 834

- WEISSMANN (G), M. PRAS et L. ROSENBERG
Arthr. and Rheum., 1967-a, 10, 325

- WEISSMANN (G)
Ann Rev Med., 1967-b, 18, 97
- WEISSMANN (G), R. HIRSCHHORN, W. TROLL, W. WEISSBERG et
K KRAKAUER - J. Clin. Invest., 1968-a, 417, 101 a
- WEISSMANN (G) et I. SPILBERG
Arthr. and Rheum., 1968-b, 11, 162
- WEISSMANN (G), I. SPILBERG et K. KRAKAUER
Arthr. and Rheum., 1969-a, 12, 103
- WEISSMANN (G), I. SPILBERG et K. KRAKAUER
in Inflammation Biochemistry and Drug Interaction -
International Symposium, Como, 1968, (éd. A. BERTELLI
et J.C. HOUCK) - Excerpta Medica Foundation, 1969-b, page 12
- WERLE (E), K. TAUBER, W. HARTENBACH et M.M. FORELL
Munchn.med. Wschr., 1958, 100, 1265
- WERLE (E)
Z. Physiol. Chem., 1964, 338, 228
- WILHELM (D.L)
Pharmacol. Rev., 1962, 14, 251
- WILHELM (D.L)
in The Inflammatory Process (éd. B.W. ZWEIFACH, L. GRANT
et R.T. Mc CLUSKEY) - Acad. Press., 1965, page 389
- WINTER (C.A), E.A. RISLEY et G.W. NUSS
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 1962, 111, 544

- WINTER (C.A)
in Non-Stéroïdal Anti-Inflammatory Drugs - International
Symposium, Milan, 1964 (éd. S. GARATTINI et M.N.G. DUKES)
Excerpta Medica Foundation, 1965, page 190

- WINTER (C.A)
Ann. Rev. Pharmacol., 1966, 6, 157

- ZACHARIAE (H), S. JUEL HENNINGSEN, J. SONDERGAARD et
P. WOLF - JURGENSEN - Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1969,
Suppl. 107, 85

- ZIFF (M), H.J. GRIBETZ et J. LOSPALLUTO
J. Clin. Invest., 1960, 39, 405

VU, le Président de Thèse :

VU et permis d'imprimer :

Le Doyen de la Faculté Mixte
de Médecine et de Pharmacie
de CAEN :

